Année 1962 N° d'ordre : 171

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

pour obtenir

le titre de Docteur de l'Université de Lyon

(mention Sciences)

par

Madeleine DREUX

Ingénieur-Chimiste E. S. C. I. L.

PREMIERE THESE

Synthèse et étude biochimique de spasmolytiques nouveaux de la série de l'acide amino - 3 aryl - 3 propionique.

DEUXIEME THESE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le 3 Mars 1962

devant la Commission d'Examen :

MM. J. COLONGE — Président

J. CHOPIN, H. PACHECO — Membres du Jury

Année 1962 N° d'ordre : 171

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

pour obtenir

le titre de Docteur de l'Université de Lyon

(mention Sciences)

par

Madeleine DREUX

Ingénieur-Chimiste E. S. C. I. L.

PREMIERE THESE

Synthèse et étude biochimique de spasmolytiques nouveaux de la série de l'acide amino - 3 aryl - 3 propionique.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN.

DEUXIEME THESE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le 3 Mars 1962

devant la Commission d'Examen :

MM. J. COLONGE — Président

J. CHOPIN, H. PACHECO — Membres du Jury

UNIVERSITE DE LYON - FACULTE DES SCIENCES

Doyens Honoraires

MM. LONGCHAMBON, DOUIN, MOUSSA.

Professeurs Honoraires

MM. LOCQUIN, de LARAMBERGUE, DOEUVRE, SOLLAUD, MENTZER, MOUSSA.

Doyen

M. GAUTHIER H.

Assesseur

M. BRACONNIER.

Professeurs

MM. LONGCHAMBON	Minéralogie
DEJARDIN	Physique Générale
DOUIN	Botanique
EYRAUD H.	Calcul Différentiel et Intégral
COURTY	Chimie-physique
PRETTRE	Chimie Industrielle
KUHNER	Microbiologie et Mycologie
MALECOT	Mécanique Rationnelle et Appliquée
PARIS	Chimie Minérale
AUMERAS	Chimie
COLONGE	Chimie Organique
FLANDRIN	Géologie Appliquée
JANIN	Physique Expérimentale
BERNARD	Physique Industrielle
DUFAY J.	Astronomie
NIGON	Zoologie Expérimentale
GAUTHIER H.	Géologie
VIRET	Géologie
WAUTIER	Zoologie
CHOPIN	Chimie Biologique
CUEILLERON	Chimie
BRACONNIER	Mathématiques
EYRAUD Ch.	Chimie Physique Appliquée
JAFFARD	Méthodes Mathématiques de la Physique
SARAZIN	Physique Nucléaire
PERES	Physiologie
MESNARD	Electronique
GRANDMONTAGNE	Physique

Professeurs sans Chaire

MM. BOUTILLIER	Minéralogie
DREUX	Chimie Organique
LAFOUCRIERE	Physique Nucléaire
TEICHNER	Chimie Industrielle
GAUME	Physique
MERLIN	Chimie M. P. C.
PACHECO	Chimie Biologique
PAVANS de CECCATY	Zoologie
PHILBERT	Physique Nucléaire

Maîtres de Conférences.

MM. DEPRAZ	Physique Nucléaire
FERON	Mathématiques
BERSILLON	Physiologie végétale S. P. C. N.
DAVID L.	Géologie
GAUTHIER J.	Chimie
LAFORGUE	Physique
LEGAY	Zoologie Expérimentale S. P. C. N.
UZAN	Physique S. P. C. N.
CHENEVOY	Géologie Appliquée
Mlle MAITROT	Physique
CHANEL	Psychophysiologie
ASCH	Physique
DUFAY M.	Physique
GINET	Zoologie
MAURY	Mathématiques
MICHEL	Minéralogie
Mme ERICSON	Physique Générale
GEVIN	Géologie
PONASSE	Mathématiques
MARTEL	Mécanique
CHERY	Physique
LEFEBVRE	Mathématiques
D'INCAN	Physique
COHEN-ADAD	Chimie
PERNET	Mathématiques

Maîtres de Conférences Adjoints.

MM. PIERRON	Chimie
LEMONDE	Mathématiques

Secrétaire Principal Honoraire

M. ROUX

Secrétaire Principal

M. BURNET

A MONSIEUR H. PACHECO

PROFESSEUR A LA FACULTE DES SCIENCES DE LYON
DIRECTEUR DU SERVICE DE CHIMIE BIOLOGIQUE
A L'INSTITUT NATIONAL DES SCIENCES APPLIQUEES.

Témoignage de profonde gratitude.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550013_0020

AVANT - PROPOS

Le présent travail a été effectué au Laboratoire de Chimie Biologique de la Faculté des Sciences de Lyon.

Nous tenons avant tout à exprimer notre reconnaissance à Monsieur le Professeur H. PACHECO sous la direction duquel ces travaux ont été effectués, pour ses conseils judicieux et la sollicitude avec laquelle il a toujours guidé nos recherches.

Nous adressons nos remerciements à Monsieur le Professeur J. COLONGE qui a bien voulu nous faire l'honneur de présider ce Jury.

Nous tenons à remercier Monsieur le Professeur J. CHOPIN qui a bien voulu faire partie de notre Jury et qui nous a accueilli dans son service avec une bienveillance sur laquelle nous avons toujours pu compter.

Ce travail a pu être mené à bien grâce à l'appui matériel du Laboratoir du Docteur PLANTIER et nous sommes heureux d'exprimer notre gratitude à Monsieur PLANTIER.

Les dosages biologiques ont été réalisés par Monsieur A. BEAUVILLA des Laboratoires B.E.T.A. (Biologie Expérimentale et d'Etudes Thérapeutiques Associés) et par Monsieur le Docteur CHAPET, du Laboratoire PLANTIER, que nous remercions vivement.

Que tous nos camarades de Laboratoire trouvent ici l'expression de notre amicale sympathie.

INTRODUCTION.

CHAPITRE I

GENERALITES SUR LES RELATIONS STRUCTURE - ACTIVITE EN PHARMACOLOGIE.

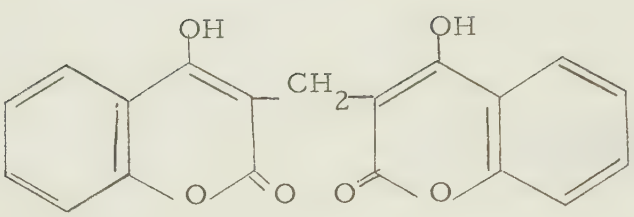
Il est souvent délicat d'établir une relation entre la structure chimique d'un médicament et son activité physiologique.

Récemment, les possibilités d'investigation des propriétés pharmacologiques des composés organiques en fonction de leur constitution ont considérablement augmenté.

Plusieurs facteurs principaux conditionnent l'action pharmacologique spécifique. Les chercheurs, en ne modifiant qu'une partie limitée d'une molécule donnée, peuvent suivre les variations de l'activité et étudier le rôle des différents facteurs.

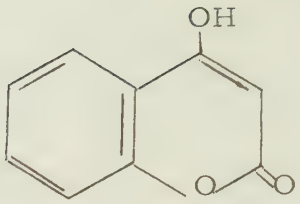
1° - En premier lieu, le volume des molécules conditionne leur activité physiologique. Les tolérances d'encombrement sont plus ou moins larges suivant le genre d'activité.

On peut donc se permettre de légers changements mais si le volume change trop, les propriétés varient et on arrive jusqu'à une inversion de l'activité dans le cas du doublement moléculaire : par exemple, les animaux ayant consommé des fourrages altérés par fermentation présentent des symptômes hémorragiques dont l'agent responsable est une méthylène bi-hydroxy-4 coumarine (dicoumarol). MEUNIER, MENTZER et leurs Collaborateurs (34) ont montré que l'hydroxy-4 coumarine possède un caractère vitaminique K et antagoniste du précédent :



Méthylène bi-hydroxy-4 coumarine

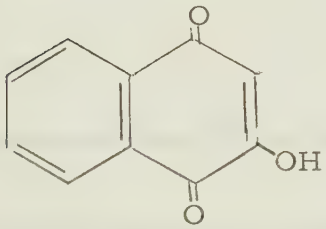
(hémorragique)



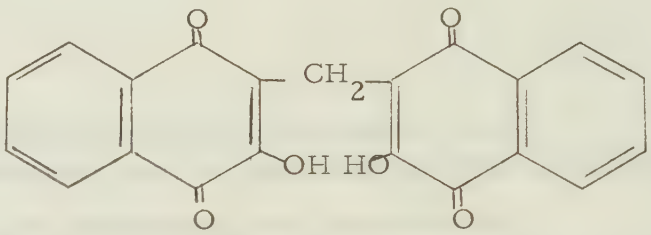
Hydroxy-4 coumarine

(coagulant)

Inversement, les auteurs précédents réalisèrent la duplication du phtiocol (qui présente l'activité vitaminique K) et obtinrent la méthylène bi-hydroxynaphtoquinone qui se comporte en antivitamine K :



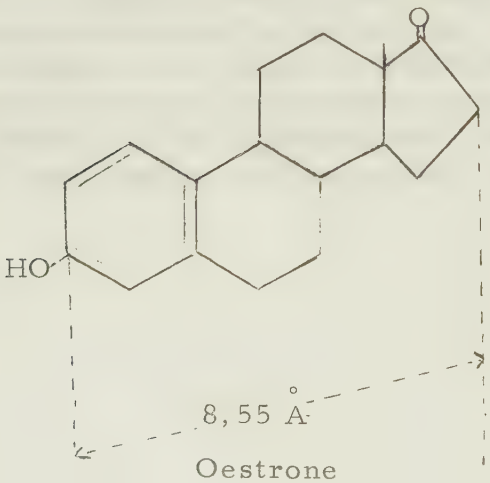
Phtiocol
(coagulant)



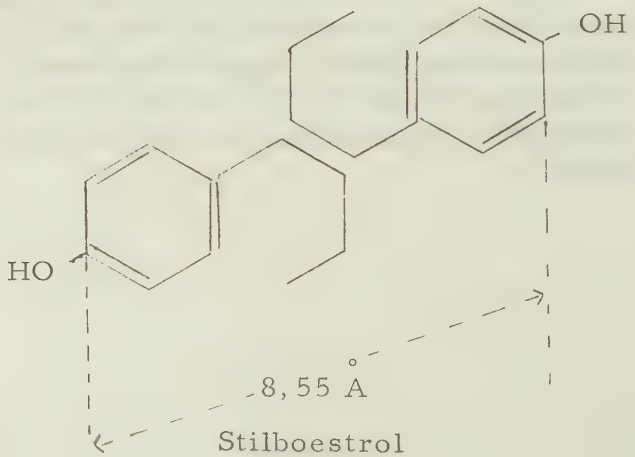
Méthylène bi-hydroxynaphtoquinone
(hémorragique)

2° - L'encombrement moléculaire n'est pas le seul facteur conditionnant l'activité physiologique. Souvent, un ou plusieurs groupements d'atomes sont indispensables et ces groupements doivent avoir un caractère et une position bien déterminée dans la molécule.

Ainsi, la propriété oestrogène (32) est conditionnée par la présence en 3 d'un OH phénolique, en 17 d'un OH phénolique ou alcoolique ou d'un CO. Elle serait liée en outre à la présence de deux hydrogènes actifs, par exemple, phénoliques, distants d'environ 8,55 A :



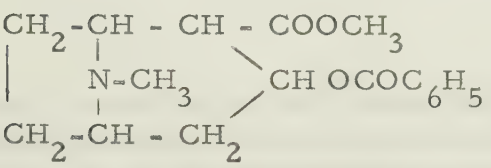
Oestrone



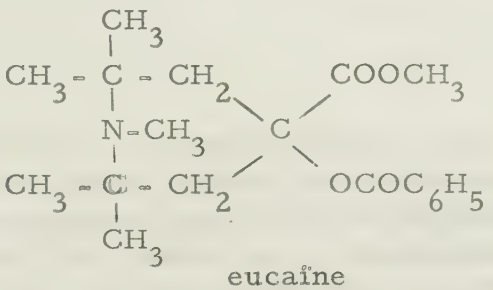
Stilboestrol

Des variations dimensionnelles tendant à modifier cette distance, réduisent ou suppriment l'activité physiologique.

C'est donc la distance entre certains atomes indispensables ou groupements d'atomes qui intervient. L'analogie spatiale de ces corps où certains cycles sont ouverts et d'autres fermés introduit la notion de cycles potentiels. L'oestrone et le stilboestrol d'une part, la cocaïne et l'eucaïne qui sont des anesthésiques locaux d'autre part, en sont des exemples :

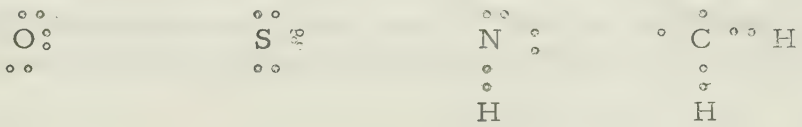


cocaïne



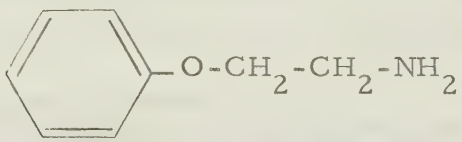
eucaïne

3° - Quand la propriété physiologique disparaît par suppression d'un groupement polaire et subsiste après remplacement de ce groupement par un isostère (ayant le même nombre d'électrons périphériques), par exemple O par S, NH ou CH_2 :

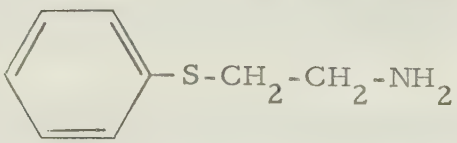


la fonction intervient par la distribution des charges électriques ou comme chaînon de liaison entre la molécule et les récepteurs biologiques ; il s'agit dans ce cas, d'analogues structuraux, les composés suivants :

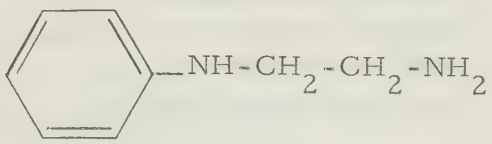
la phénoxyéthylamine



la phénylthioéthylamine

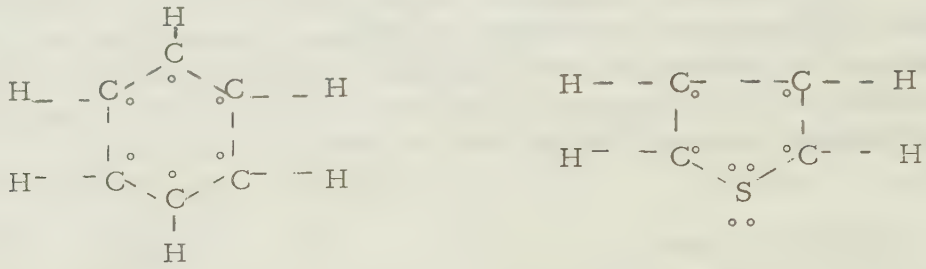


la phénylaminoéthylamine



sont tous trois des exemples simples de sympathicomimétiques.

De la même façon, les isostères benzène et thiophène (33) ont une constitution électronique semblable qui entraîne une ressemblance de leurs propriétés physicochimiques :

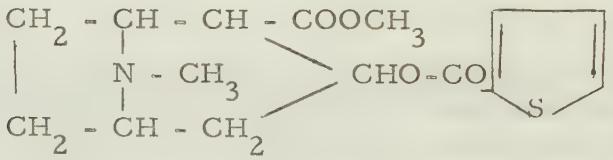


dans les deux formules, on retrouve six électrons π en cycle fermé (ceci serait valable aussi pour le furanne et le pyrrole). De nombreux auteurs, comparant les propriétés pharmacodynamiques des corps thiophéniques et de leurs isostères benzéniques, ont trouvé qu'elles sont souvent semblables du point de vue qualitatif. Les activités sont généralement proches, mais parfois inférieures ou supérieures, sans règle précise. Nous citerons la trasentine : ester de l'acide diphénylacétique et du diéthylaminoéthanol ; spasmolytique connu :

$$(C_6H_5)_2\text{-CH-COO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}(C_2H_5)_2$$

et son isostère le phényl-2 thienyl-2 acétate de diéthyl aminoéthyle qui a aussi des propriétés atropiniques mais bien supérieures (100 fois plus).

La "thiophéne cocaïne" a des propriétés anesthésiques locales semblables à la cocaïne mais souvent plus durables et sa toxicité est plus faible .



4° - Quand la propriété physiologique disparaît après remplacement d'une fonction par une autre, on peut supposer que la fonction intervient par sa réactivité chimique avec un substrat, conditionnée elle-même par le volume des atomes qui composent cette fonction et par la répartition des charges.

De plus, quand une propriété physiologique subsiste après le remplacement d'une fonction par un groupe non polaire, la fonction intervient par sa forme. Par exemple J. LEVY (1) trouve que pour certains esters aminés, la fonction ester n'est pas indispensable à l'activité antispasmodique. En remplaçant la fonction ester par deux chaînons (CH_2), l'activité papavérinique subsiste. Par exemple le diphényl-1, 1 N-diéthyl-5 pentane :

$$(C_6H_5)_2\text{-CH}(CH_2)_4\text{-N}(C_2H_5)_2$$

est doué de propriétés atropinique et papavérinique 10 fois et 35 fois plus importantes que la trasentine : $(C_6H_5)_2\text{-CH-COO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}(C_2H_5)_2$.

CHAPITRE II

LES SPASMOLYTIQUES.

A - LEUR ACTIVITE PHYSIOLOGIQUE

La musculature lisse en se contractant anormalement produit des phénomènes douloureux. Le but des produits spasmolytiques est de faire disparaître cette contracture ou spasme et par suite la douleur qui l'accompagne (par exemple spasme du tractus digestif, coliques néphrétiques, vésiculaires etc ...).

Mécanisme

Il existe deux types d'antispasmodiques illustrés respectivement par des produits spasmolytiques déjà employés. Les antispasmodiques à caractère musculotrope lèvent le spasme des fibres musculaires lisses, induit par le chlorure de baryum. Ces médicaments dont le type est la papavérine ont une action dite papavérinique.

Les antispasmodiques à caractère neurotrope soustraient le muscle aux excitations du parasympathique en déplaçant l'acétylcholine des substrats sur lesquels elle agit. L'atropine illustrant ce groupe, les médicaments de ce type ont une action dite atropinique.

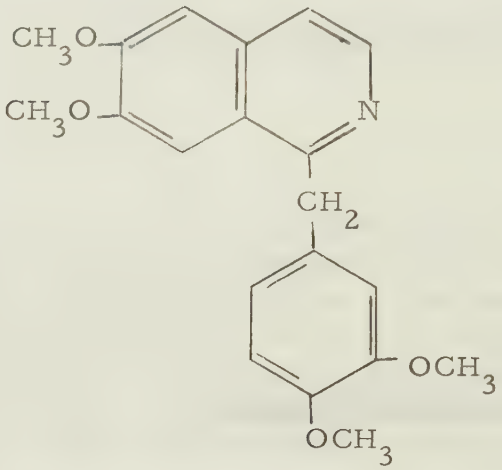
Il est à noter cependant que les produits spasmolytiques sont généralement neurotropes et musculotropes avec une dominante pour l'une ou l'autre action.

B - LES DIFFERENTES CLASSES DE SPASMOLYTIQUES

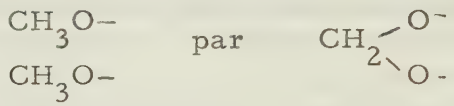
Nous en isolerons quelques-uns parmi les principaux :

I - Les spasmolytiques musculotropes

1 - Les dérivés de la papavérine - La papavérine, alcaloïde de l'opium isolé par MERCK en 1848 est le spasmolytique naturel le plus important :

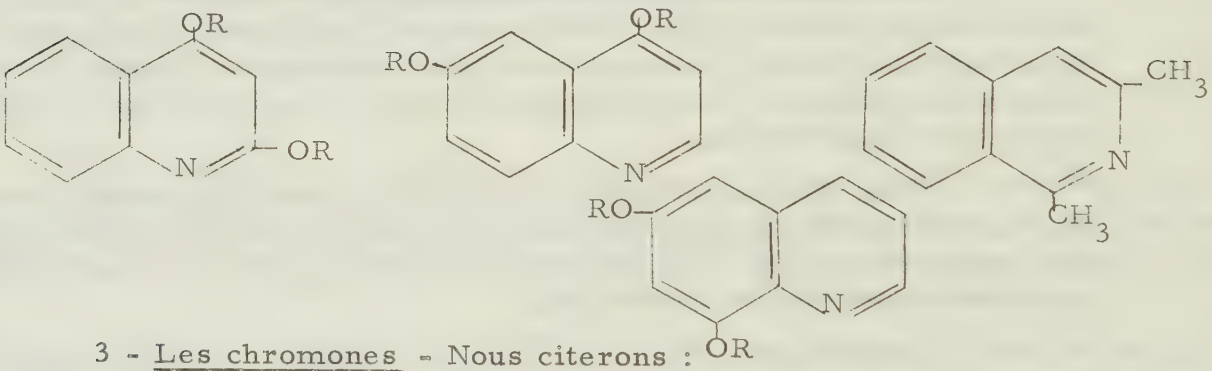


A partir de cette formule, on a remplacé les méthoxy par des éthoxy (perparine), puis deux méthoxy :

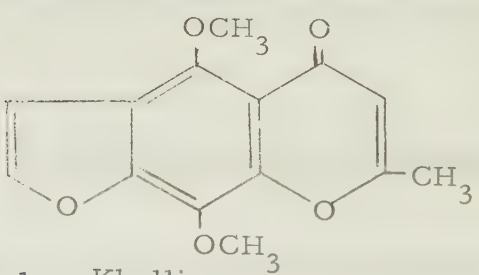


chaque fois, les produits sont plus actifs et moins toxiques.

2 - Les dérivés de la quinoléine et de l'isoquinoléine -

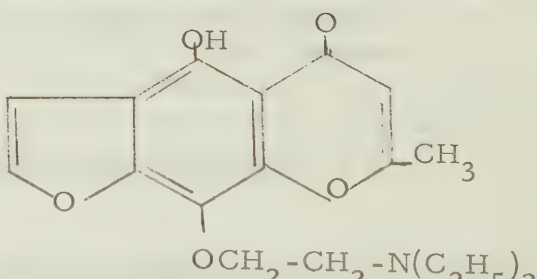


3 - Les chromones - Nous citerons :



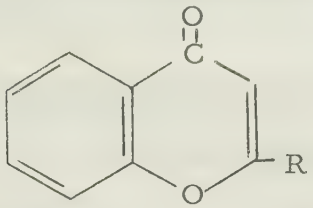
la Khelline

et

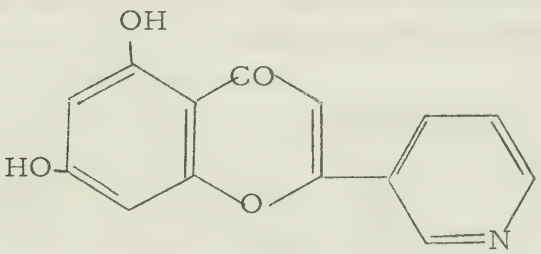


la Néokhelline

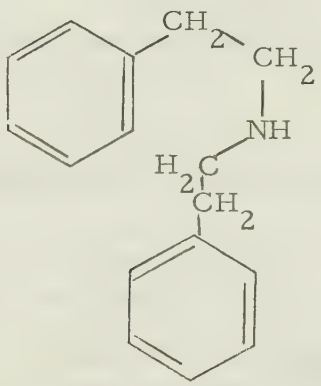
Les chromones azotées synthétisées par SCHMUTZ (2)



et en particulier la (pyridyl-3)2 chromone synthétisée par PACHECO (3) :

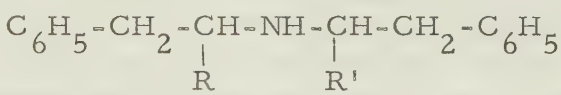


4° - <u>Les amines</u> - La di(phényl-2 éthyl) amine :



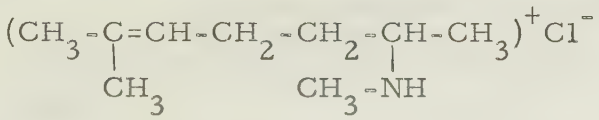
peut être considérée comme résultant d'une coupure théorique du noyau isoquinoléinique de la papavérine.

Son action antispasmodique a conduit à synthétiser des diamines de formule générale :



(spasmacol)

On peut noter aussi l'octine :

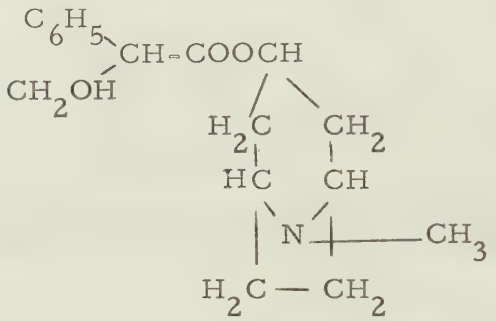


II - Les spasmolytiques neurotropes

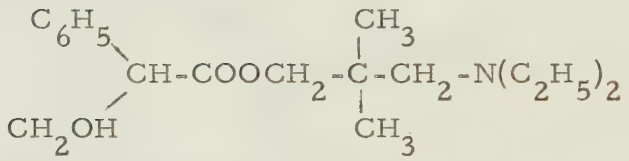
1 - Les esters basiques ou esters amines

$$R\text{-}COO(CH_2)_n\text{-}N(R'R'')$$

les esters de certains aminoalcools sont souvent porteurs de propriétés antispasmodiques importantes, c'est dans cette série qu'on trouve la trasentine, l'atropine, le spasmodex, l'asalgine etc ...



atropine

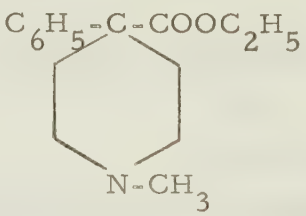


syntropan

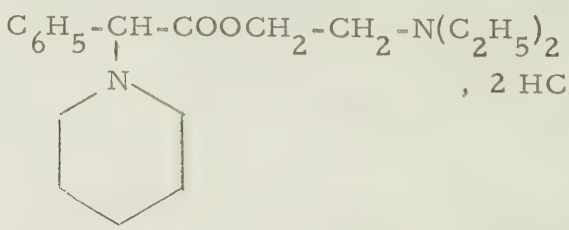
2 - les amino-esters

Cette série présente beaucoup d'intérêt. J. LEVY (1) l'a déjà bien mis en évidence.

On trouve le piridosal :



le novosparol ou diétamivérine :



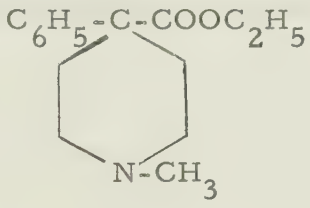
, 2 HCl (4)

C - IDEES DIRECTRICES POUR LA SYNTHESE DES CORPS DE LA SERIE DE L'ACIDE PHENYL-3 PIPERIDYL-3 PROPIONIQUE.

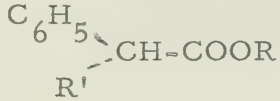
En étudiant ces antispasmodiques, nous avons retenu certaines constantes, donnant naissance à des propriétés spasmolytiques.

D'abord l'acide benzilique : $(C_6H_5)_2C(OH)\text{-}COOH$, l'acide tropique : $C_6H_5\text{-}CH(CH_2OH)\text{-}COOH$ et ses dérivés ont toujours un radical phényle.

Dans le piridosal, le voisinage du radical phényle et d'un cycle azoté, apporte des propriétés intéréssantes :



De nombreux travaux ont été alors consacrés aux propriétés spasmolytiques des esters de formule générale :



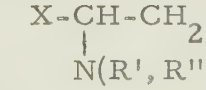
En 1950, REETZ (4) a introduit pour la première fois, comme radical R', un reste d'amine cyclique secondaire lié par son azote au carbone en α.

BLICKE, FAUST et RAFFELSON (5), puis JANSEN (6) utilisèrent un reste pipéridine pour R' et un reste β-pipéridinoéthyle et β-morpholinoéthyle pour R.

Enfin, en 1957, NAJER, CHABRIER et GIUDICELLI (7) complètent cett série ; ils font varier la fonction ester R et trouvent des corps d'activité valable.

Ils nous a alors semblé intéressant en conservant ces caractéristiques, d'augmenter la distance entre le carbone porteur de la fonction ester et l'azote. J. LEVY (1) avait montré, en effet, l'influence du nombre de chaînons carbonés séparant la fonction amine de la fonction ester dans sa série d'esters aminés : deux chaînons, d'après elle, sont favorables à l'action analgésique.

Nous avons étudié la préparation, puis l'action spasmolytique des corps de formule générale :



où Y représente :

1° - une fonction ester COOR dans laquelle nous avons fait varier l'alcool estérifiant : en augmentant la longueur de sa chaîne de C_1 à C_6, en

utilisant un alcool aminé puis des alcools éthers-oxydes.

2° - une fonction amide $CO-NH_2$ destinée à développer le caractère anesthésique local (1, 42).

3° - une fonction amine $N(R', R'')$, destinée à développer le caractèr antihistaminique et formant ainsi des diamines (1, 12).

4° - une fonction cétone $CO-R$

où X représente :

des radicaux phényle, méthoxy-4 phényle, diméthoxy-3,4 phényle ou furyle.

PREMIERE PARTIE

SYNTHESE CHIMIQUE.

INTRODUCTION.

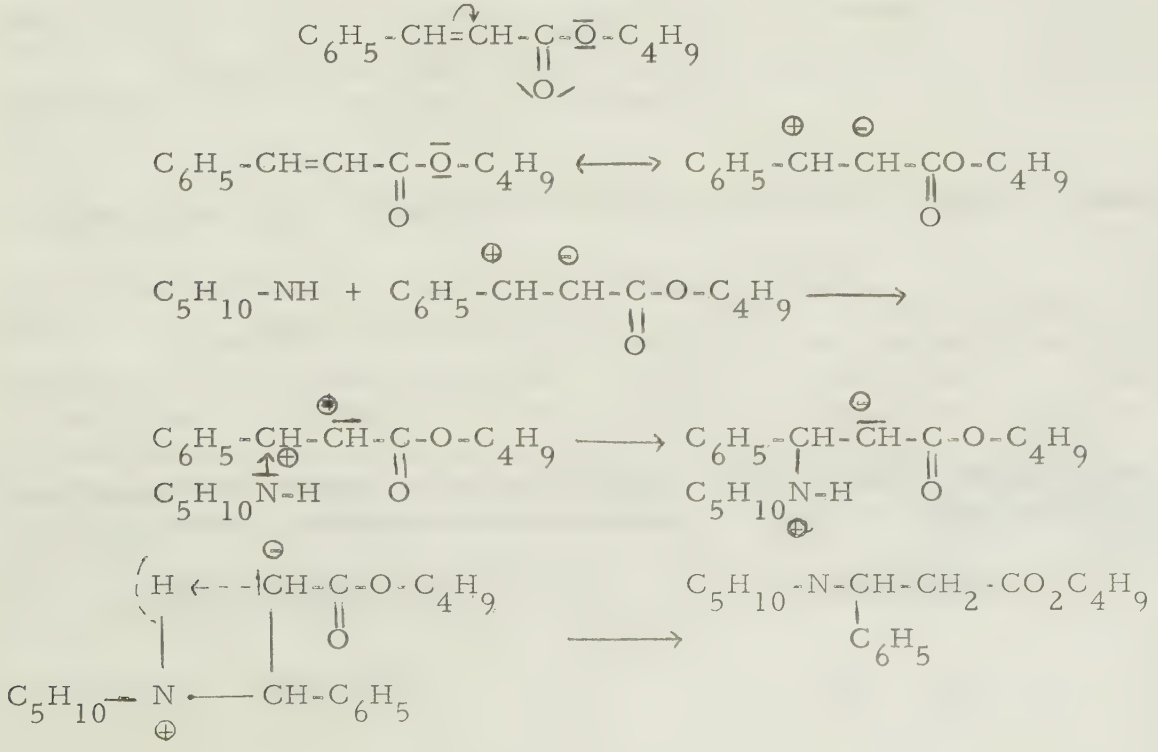
La plupart des corps que nous avons synthétisés peuvent être considérés comme dérivant de l'acide phényl-3 propionique.

L'idée chimique générale de synthèse est une application de la réaction de Michaël : addition de bases telles que la pipéridine, la morpholine, la pyrrolidine sur une double liaison activée d'esters, d'amides, de cétones α,β-éthyléniques.

La réaction de Michaël qui est une addition nucléophile intéresse les doubles liaisons activées en α par une fonction présentant des effets inductif et mésomère.

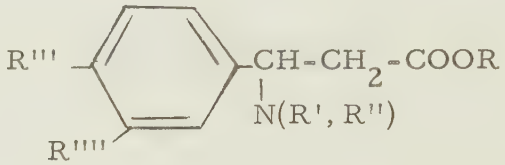
Cette réaction débute par l'attaque du système éthylénique par une entité à forte densité électronique (carbanion, base).

Par exemple, dans le cas de l'addition de la pipéridine sur le cinnamate de butyle, on a les stades suivants :

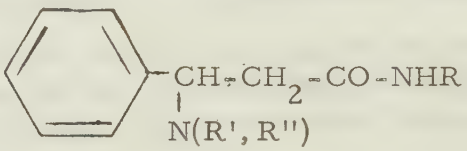


Les travaux relatifs aux produits préparés se diviseront en quatre chapitres :

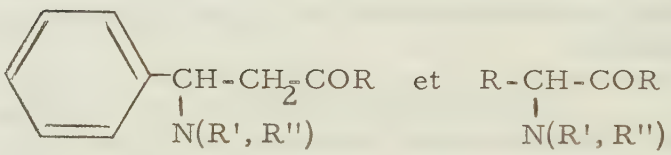
1 - les esters dérivés de l'acide cinnamique :



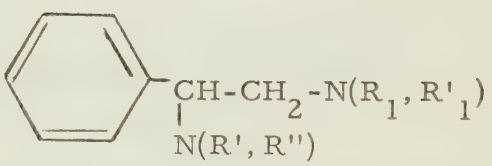
2 - les amides dérivés de l'acide cinnamique :



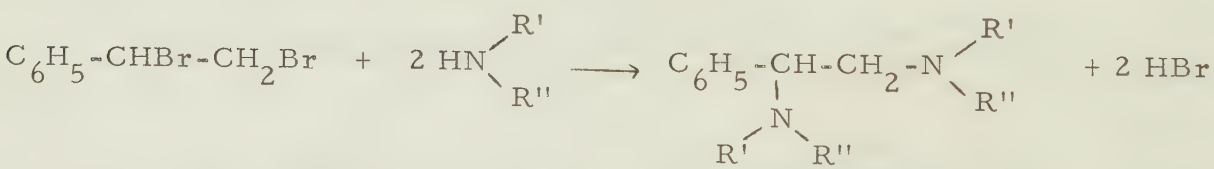
3 - les cétones :



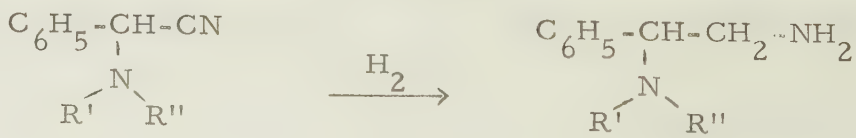
4 - les diamines :



obtenues en fixant la base azotée par l'intermédiaire d'un dérivé bromé :

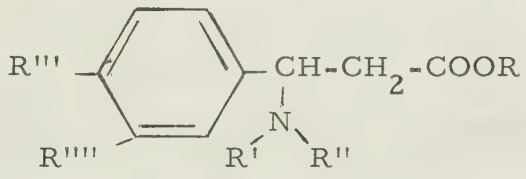


ou en réduisant des composés à degré d'oxydation supérieur et possédant déjà une fonction amine secondaire voisine du noyau phényle, par exemple :



CHAPITRE PREMIER

SYNTHESE D'ESTERS AMINO-3 ARYL-3 PROPIONIQUES.

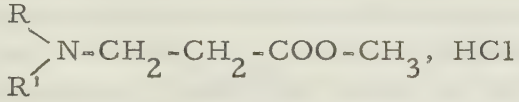


BIBLIOGRAPHIE

L'addition de quelques bases azotées hétérocycliques sur certains esters cinnamiques avait déjà été réalisée par POLLARD et MATTSON (8) qui s'inspiraient eux-mêmes de A. P. PHILIPPS (9) et ADAMS et LEONARD (10).

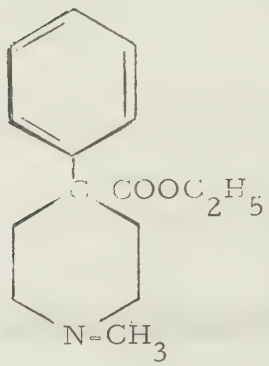
ADAMS a additionné le méthyl-3 carbethoxy-2 pyrrolidine sur l'acrylate d'éthyle en chauffant pendant 24 heures à reflux et en présence d'hydroquinone ; il obtenait le β-N(méthyl-3 carbethoxy-2 pyrrolidyl) propionate d'éthyle.

PHILIPPS a condensé l'acrylate de méthyle avec une amine pour obtenir des esters N-substitués de la β-alanine :



en chauffant pendant 24 heures à reflux dans le benzène.

POLLARD et MATTSON ont recherché des composés analgésiques. S'inspirant des méthodes précédentes, ils ont additionné sur le cinnamate d'éthyle la pipéridine, la morpholine, la pyrrolidine et la méthylpipéridine, puis la pipéridine sur les cinnamates de méthyle, éthyle, n-propyle, n-butyle, n-amyle, n-hexyle, 2-méthylpropyle, 1-méthylpropyle, 1-méthylbutyle (voir tableaux ci-après). (Leurs corps sont incomplètement décrits, ils ne donnent aucun point de fusion). Ils n'ont pas indiqué les idées qui les ont conduits à ces synthèses, probablement l'analogie avec le dolosal :



Leur réaction d'addition est faite avec des quantités moléculaires de réactifs dans un solvant comme l'heptane ou le toluène ils l'ont améliorée en employant l'hydroxyde de tétraméthylammonium comme catalyseur, ainsi qu'un excès de base.

Mode opératoire général

POLLARD et MATTSON font leur réaction d'addition dans un solvant. Quand ils chauffent à reflux, sans solvant, les esters cinnamiques avec un excès de base, ils obtiennent l'amide correspondant.

Nous avons, pour notre part, réalisé la réaction d'addition sur la double liaison, sans solvant, avec de bons rendements (souvent supérieurs à 50 %), en chauffant 8 heures au bain-marie, entre 70 et 80°, les esters cinnamiques avec un excès de base servant de milieu réactionnel (1 mole d'ester pour 3 moles de base).

Après chauffage, l'excès de base est chassé sous vide. Le résidu est repris par de l'éther et la solution éthérée est extraite avec de l'acide chlorhydrique 3 N. Le cinnamate qui n'a pas réagi reste en solution dans l'éther. Suivant les cas, le chlorhydrate précipite ou non dans la solution aqueuse. S'il précipite, il ne reste qu'à le faire recristalliser dans un solvant approprié. Si non, la solution est alcalinisée avec du bicarbonate de sodium. La base libre est extraite à l'éther, la solution éthérée est séchée sur du sulfate de sodium anhydre pendant une nuit puis on y fait barboter de l'acide chlorhydrique gazeux, sec. Le chlorhydrate est souvent visqueux à ce stade et le problème de la cristallisation est important. Le rendement sera donné en produit recristallisé, car il est la plupart du temps, impossible de peser le produit brut. (Voir tableaux n° 1, 2 et 3).

Les analyses ont été faites par le laboratoire de Microanalyse C. N. R. S de la Chaire de Chimie Organique de la Faculté des Sciences de Lyon.

Les points de fusion sont les points de fusion instantanée, pris au bain de mercure jusqu'à 180° non corrigés, et au bloc Maquenne pour les températures supérieures à 180°.

Les produits marqués (*) sont déjà signalés, mais incomplètement décrits (8).

Tableau 1

X-CH-CH_2-COOR
N
, HCl

R	X	Formule brute	P.M.	Analyse Calc. %	Tr. %	F.	Solvant recrist.
- H		$C_{14}H_{20}ClNO_2$	269,5	C 62,33 H 7,42 N 5,19	61,77 7,45 5,34	135°	méthyl-éthyl-cétone
$-CH_3$ (*)	"	$C_{15}H_{22}ClNO_2$	283,5	N 4,93	4,89	208°	propanol
$-C_2H_5$ (*)	"	$C_{16}H_{24}ClNO_2$	297,5	N 4,70	4,68	205°	"
$-C_3H_{7n}$ (*)	"	$C_{17}H_{26}ClNO_2$	311 5	N 4,49	4,63	188°	"
$-C_3H_{7iso}$	"	$C_{17}H_{26}ClNO_2$	311,5	N 4,49	4,50	216°	"
$-C_4H_{9n}$ (*)	"	$C_{18}H_{28}ClNO_2$	325,5	N 4,30	4,28	170°	"
$-C_4H_{9iso}$ (*)	"	$C_{18}H_{28}ClNO_2$	325,5	N 4,30	4,25	147°	"
$-C_4H_{9sec.}$ (*)	"	$C_{18}H_{28}ClNO_2$	325,5	N 4,30	4,30	173°	méthyl-éthyl-cétone
$-CH_2-CH_2-N(C_2H_5)_2$ (*)	"	$C_{20}H_{34}ClN_2O_2$	405	C 59,26 H 8,39 N 6,91	59,10 8,49 7,07	195°	propanol + acétone anhydre

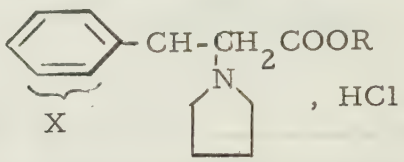
Tableau I (suite)

$-C_6H_{11}$ Cyclohexyle		$C_{20}H_{30}ClNO_2$	351,5	C 68,27 68,19 H 8,53 8,72 N 3,98 3,98	194°	Propanol
$-C_4H_6Cl_3$ Trichloro-butyle	"	$C_{18}H_{25}Cl_4NO_2$	429	C 50,35 50,24 H 5,82 5,80 N 3,26 3,28	213° peu fran-che	Propanol
$-CH_2$ CH_2 OC_2H_5	"	$C_{18}H_{28}ClNO_3$	341,5	C 63,25 63,32 H 8,19 8,29 N 4,09 4,08	140°	Acétone anhydre
CH_2 CH_2 OC_4H_{9n}	"	$C_{20}H_{32}ClNO_3$	369,5	C 64,95 64,14 H 8,66 8,81 N 3,79 4,01	128°	Alcool absolu
CH_2 CH_2 OC_4H_9 iso	"	$C_{20}H_{32}ClNO_3$	369,5	C 64,95 64,83 H 8,66 8,74 N 3,79 4,00	136°	Alcool absolu + éther anhydre
$-C_4H_9$		$C_{19}H_{30}ClNO_3$	355,5	N 3,94 4,05	152°	Acétone anhydre
$-C_2H_5$		$C_{18}H_{28}ClNO_4$	357,5	C 60,41 59,92 H 7,83 8,32 N 3,92 4,14	167°	Acétone anhydre
$-C_4H_9$ iso	"	$C_{20}H_{32}ClNO_4$	385,5	C 62,27 61,69 H 8,30 7,40 N 3,63 4,50	135°	Acétone anhydre ou propanol

Tableau I (fin).

$-CH_3$		$C_{13}H_{20}ClNO_3$	275,5	C 56,62 55,63 H 7,26 7,22 N 5,08 5,16	187°	propanol
$-C_2H_5$	"	$C_{14}H_{22}ClNO_3$	287,5	C 58,43 58,53 H 7,65 7,94 N 4,87 4,75	160°	acétone anhydre
$-C_3H_{7n}$	"	$C_{15}H_{24}ClNO_3$	301,5	C 59,70 59,89 H 7,96 7,89 N 4,64 4,72	120°	propanol + éther sec
$-C_4H_{9n}$	"	$C_{16}H_{26}ClNO_3$	315,5	trop hygroscopique	170°	acétone + éther très difficile

Tableau II.



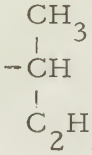
R	X	Formule brute	P.M.	Analyse Calc. % Tr. %	F.	Solvant recrist.
-H		$C_{13}H_{18}ClNO_2$	255,5	C 61,05 60,90 H 7,04 7,08 N 5,48 5,64	190°	Alcool absolu
$-CH_3$	"	$C_{14}H_{20}ClNO_2$	269,5	C 62,33 62,46 H 7,42 7,52 N 5,19 5,61	205°	Propanol
$-C_2H_5$ (*)	"	$C_{15}H_{22}ClNO_2$	283,5	C 63,49 63,45 H 7,76 7,86 N 4,94 4,82	172°	propanol + éther sec
$-C_3H_7$	"	$C_{16}H_{24}ClNO_2$	297,5	C 64,53 64,52 H 8,07 8,07 N 4,76 4,62	165°	propanol + éther sec
$-C_4H_{9n}$	"	$C_{17}H_{26}ClNO_2$	311,5	C 65,49 65,75 H 8,34 8,42 N 4,49 4,62	135°	propanol + acétone anhydre
$-C_4H_{9iso}$	"	$C_{17}H_{26}ClNO_2$	311,5	C 65,49 65,39 H 8,34 8,32 N 4,49 4,58	152°	Acétone
-sec. $-C_4H_9$ 	"	$C_{17}H_{26}ClNO_2$	311,5	C 65,49 65,26 H 8,43 8,57 N 4,49 4,68	153°	Alcool absolu

Tableau II (fin).

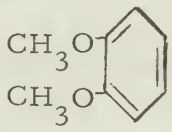
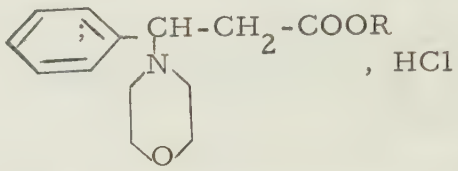
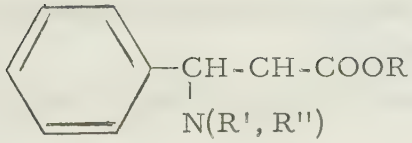
-CH_2-CH_2-N(C_2H_5)(C_2H_5)		$C_{19}H_{32}Cl_2N_2O_2$	391°	C 58,31 58,28 H 8,18 8,30 N 7,16 7,11	184°	Propanol + acéton anhydre
CH_2 CH_2 OC_2H_5	"	$C_{17}H_{26}ClNO_3$	327,5	C 62,29 61,44 H 7,93 7,88 N 4,27 4,25	90°	alcool absolu + éther se
CH_2 CH_2 OC_4H_{9n}	"	$C_{19}H_{30}ClNO_3$	355,5	produit trop hygroscopique	110°	Acétone anhydre
CH_2 CH_2 OC_4H_9 iso	"	$C_{19}H_{30}ClNO_3$	355,5	"	78°	Acétone anhydre
-C_2H_5		$C_{17}H_{26}ClNO_4$	311,5	C 59,38 59,19 H 7,56 7,62 N 4,07 4,22	158°	Alcool absolu

Tableau III.



R	Formule brute	P.M.	Analyse Calc. %	Tr. %	F.	Solvant recrist.
$-C_2H_5$ (*)	$C_{15}H_{22}ClNO_3$	299,5	N 4,67	4,67	190°	Propanol
$-C_4H_{9n}$	$C_{17}H_{26}ClNO_3$	327,5	N 4,27	4,67	171°	Propanol ou acéton anhydre
$-C_4H_9$ sec.	$C_{17}H_{26}ClNO_3$	327,5	C 62,29 H 7,92 N 4,27	62,24 8,08 4,22	175°	Méthyl-éthyl-cétone
CH_2 CH_2 OC_2H_5	$C_{17}H_{26}ClNO_4$	343,5	C 59,38	59,34 59,52	145°	Alcool absolu
			H 7,56	7,57 7,45		
			N 4,07	3,81 4,18		
CH_2 CH_2 OC_4H_{9n}	$C_{19}H_{30}ClNO_4$	371,5	C 61,37 H 8,07 N 3,76	61,54 8,19 3,80	130°	Alcool absolu
CH_2 CH_2 $OC_4H_{9\,iso}$	$C_{19}H_{30}ClNO_4$	371,5	C 61,37 H 8,07 N 3,76	59,92 8,09 4,19	130°	Alcool + éther sec puis acétone anhydre

I - $R''' = R'''' = H$



A - ADDITION SUR LES ESTERS CINNAMIQUES SIMPLES

Matières premières

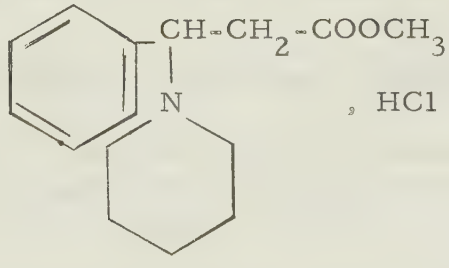
Les esters cinnamiques sont préparés (8) par action de l'alcool correspondant sur le chlorure de cinnamoyle.

Le chlorure de cinnamoyle est préparé par action du chlorure de thionyle sur l'acide cinnamique en solution dans du benzène, F = 35-36°. La pipéridine (Eb = 106°), la morpholine (Eb = 128°) et la pyrrolidine (Eb = 88°) sont les bases techniques du commerce redistillées.

1) - R = CH_3 Cinnamate de méthyle (37)

a) N(R', R'') = pipéridine.

Chlorhydrate du (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de méthyle



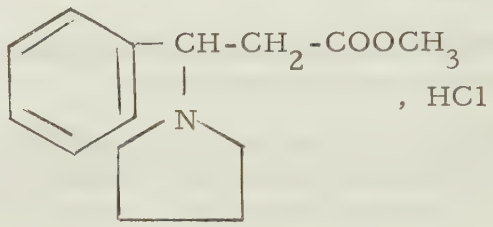
54 g (1/3 mole) de cinnamate de méthyle sont chauffés 8 heures au bain-marie à 80° avec 85 g (1 mole) de pipéridine, soit trois fois la quantité théorique. L'excès de pipéridine est chassé sous vide. Le résidu refroidi est repris avec 150 ml d'éther. Cette solution éthérée est extraite avec 200 ml d'acide chlorhydrique 3N. On chasse les traces d'éther de la solution chlorhydrique aqueuse et on l'entrepose une nuit dans le réfrigérateur. Le chlorhydrate précipite, blanc. Il est essoré et séché, puis dissous dans du propanol bouillant. Le produit est très soluble mais recristallise bien ; il est essoré et séché sur bain-marie à 100° sous un vide de 16 mm. On obtient 45 g de produit recristallisé; Rendement 48 % après recristallisation.

Le chlorhydrate se décompose autour de 180°, la fusion franche se situe à 208° (propanol).

Analyse : $C_{15}H_{22}ClNO_2$, Calc. % : N 4,93 ; Tr. 4,89.

b) N(R', R'') = pyrrolidine

Chlorhydrate du (pyrrolidyl-1) -3 phényl-3 propionate de méthyle



En général, les dérivés avec la pyrrolidine cristallisent moins bien, sont plus hygroscopiques et donnent des résultats d'analyse moins précis.

Même préparation que précédemment.

Le chlorhydrate ne précipite pas dans la solution aqueuse. Cette solution est alcalinisée avec du bicarbonate de sodium. La base libre formée est extraite deux fois à l'éther. Cette solution éthérée est séchée une nuit sur du sulfate de sodium anhydre. Elle est filtrée ; on y fait barboter de l'acide chlorhydrique sec, gazeux, en refroidissant dans un bain de glace.

Le chlorhydrate est décanté et recristallisé deux fois dans du propanol. Il est séché sur bain-marie bouillant, sous grand vide, en présence d'anhydride phosphorique. F = 205°.

Rendement (après deux recristallisations) = 40 %.

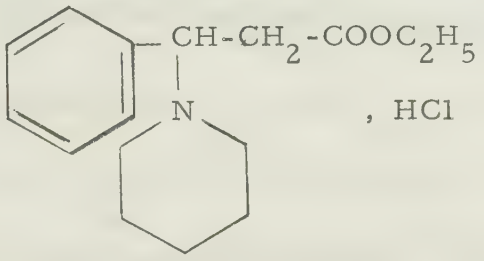
Analyse : $C_{14}H_{20}ClNO_2$, Calc. % : C 62,33 H 7,42 N 5,19
Tr. 62,46 7,52 5,61.

2) -R = C_2H_5 Cinnamate d'éthyle (38)

Eb_{15} = 144° ; F = 6°5

a) N(R', R'') = pipéridine

Chlorhydrate du (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate d'éthyle

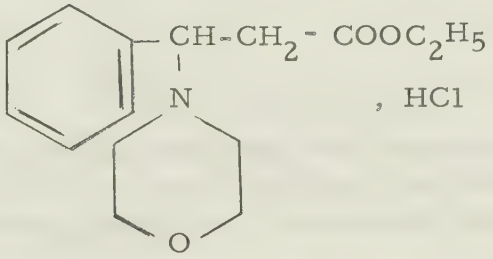


Même préparation qu'avec le cinnamate de méthyle.
Rendement (après une recristallisation) = 47 %.
(Dès 125°, le produit commence à se sublimer). F = 205°.

Analyse : $C_{16}H_{24}ClNO_2$, Calc. % : N 4,70 ; Tr. 4,68.

b) N (R', R'') = morpholine

Chlorhydrate du (morpholinyl-4)-3 phényl-3 propionate d'éthyle



Les dérivés morpholiniques sont dans l'ensemble les mieux cristallisés et les plus faciles à obtenir, mais leur intérêt thérapeutique étant moindre, nous n'en avons préparé qu'un petit nombre.

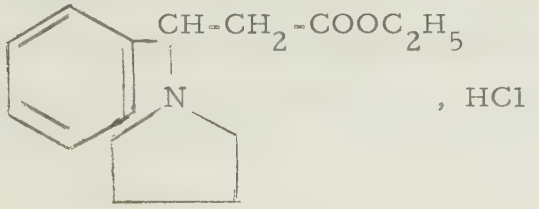
Le chlorhydrate cristallise dans la solution aqueuse,
Rendement (après une recristallisation) = 48 %.

(Le produit commence à se décomposer à 150°) ; F = 190° (propanol).

Analyse : $C_{15}H_{22}ClNO_3$, Calc. % : N 4,67 ; Tr. 4,67.

c) N (R', R'') = pyrrolidine

Chlorhydrate du (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionate d'éthyle



Le chlorhydrate précipite par barbotage d'acide chlorhydrique dans la solution éthérée de la base. On le dissout dans du propanol et on rajoute un peu d'éther sec pour faciliter la cristallisation. F = 172° . Rendement (après une recristallisation) = 40 %.

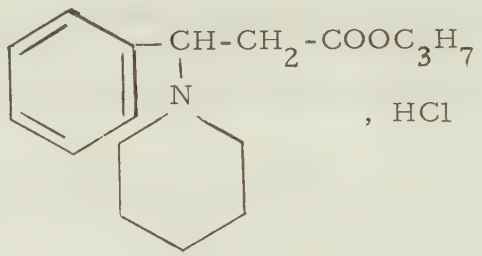
Analyse : $C_{15}H_{22}ClNO_2$, Calc. % : C 63,49 H 7,76 N 4,94
Tr. 63,45 7,86 4,82.

3) R = C_3H_7 Cinnamate de n-propyle (37)

C_6H_5-CH=CH-$COOC_3H_7$ $Eb_{0,5}$ = 92-94°.

a) N(R', R'') = pipéridine.

Chlorhydrate du (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de n-propyle

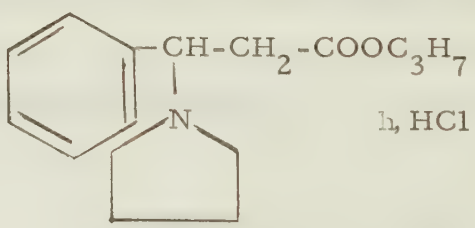


Le chlorhydrate précipite dans la solution aqueuse ;
Rendement (après deux recristallisations) = 25 %.
(Le produit commence à se décomposer à 150°, F = 188°(propanol).

Analyse : $C_{17}H_{26}ClNO_2$, Calc. % : N 4,48 ; Tr. 4,63.

b) N(R', R'') = pyrrolidine

Chlorhydrate du (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionate de n-propyle



Première recristallisation : propanol + éther sec
Deuxième recristallisation : propanol.

F = 165°. Rendement (après deux recristallisations) = 18 %.

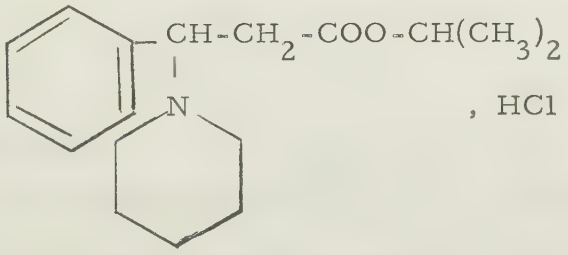
Analyse : $C_{16}H_{24}ClNO_2$, Calc. % : C 64,53 H 8,07 N 4,70
Tr. 64,52 8,07 4,62.

4) R = $CH(CH_3)_2$ Cinnamate d'isopropyle (39)

C_6H_5-CH=CH-COO-$CH(CH_3)_2$ Eb = 268-70°.

N(R', R'') = pipéridine.

Chlorhydrate du (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate d'isopropyle



Le chlorhydrate précipite dans la solution aqueuse.
Rendement (après deux recristallisations) = 31 %.

F = 147° (propanol).

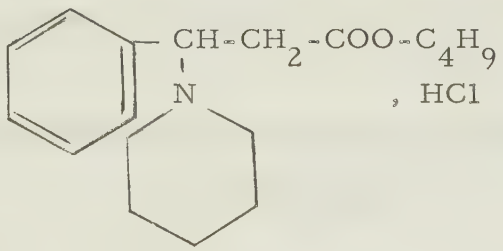
Analyse : $C_{17}H_{26}ClNO_2$, Calc. % : N 4,30 ; Tr. 4,25.

5) R = $-C_4H_9$ Cinnamate de n-butyle (39)

C_6H_5-CH=CH-COO-C_4H_9 $Eb_{0,5}$ = 98-100° ; Eb_{760} = 288°.

a) N(R', R'') = pipéridine.

Chlorhydrate du (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de n-butyle



C'est le produit le plus intéressant de notre série ; nous aurons l'occasion d'y revenir beaucoup plus longuement. Le chlorhydrate précipite dans la solution aqueuse chlorhydrique.

F = 170° (propanol).

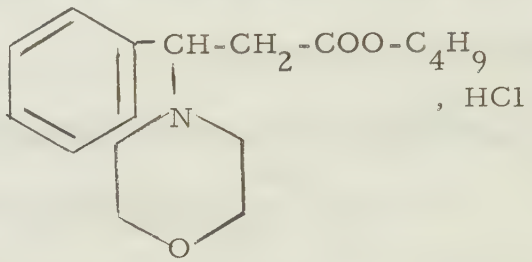
Rendement (après deux recristallisations) = 45 %.

(Le rendement est supérieur aux autres car la réaction a été souvent reproduite).

Analyse : $C_{18}H_{28}ClNO_2$; Calc. % : N 4,30 ; Tr. 4,20.

b) N(R', R'') = morpholine.

Chlorhydrate du (morpholinyl-4)-3 phényl-3 propionate de n-butyle

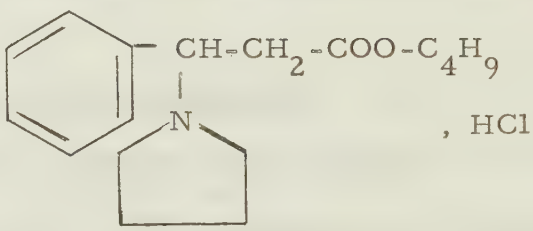


Le chlorhydrate précipiteiimmédiatement dans la solution aqueuse.
F = 171° (propanol).
Rendement (produit brut) = 70 %.

Analyse : $C_{17}H_{26}ClNO_3$, Calc. % : N 4,27 ; Tr. 4,67.

c) N (R', R'') = pyrrolidine

Chlorhydrate du (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionate de n-butyle



Le chlorhydrate précipite par barbotage d'acide chlorhydrique gazeux sec dans la solution éthérée de la base (bien refroidir).

Le produit est recristallisé dans un mélange à 50 %: propanol-acétone anhydre.

F = 135°.

Rendement (produit recristallisé) = 20 %.

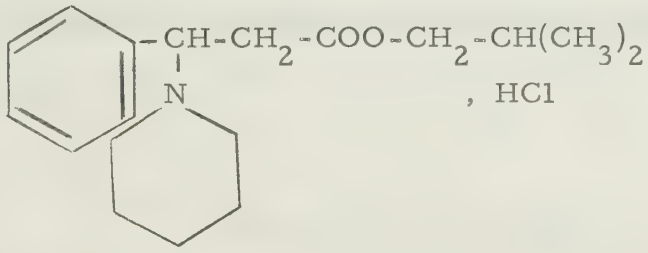
Analyse : $C_{17}H_{26}ClNO_2$, Calc. % : C 65,49 H 8,34 N 4,49
Tr. 65,75 8,42 4,62.

6) R = $-CH_2-CH(CH_3)_2$ Cinnamate d'isobutyle (39)

$C_6H_5-CH=CH-COO-CH_2-CH(CH_3)_2$ $Eb_{0,35} = 88°$; Eb_{13}=145

a) N(R', R'') = pipéridine.

Chlorhydrate du (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate d'isobutyle



Le chlorhydrate précipite dans la solution aqueuse chlorhydrique.

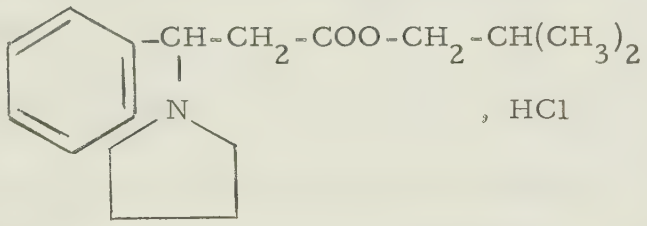
F = 147° (propanol).

Rendement (après deux recristallisations) = 30 %.

Analyse : $C_{18}H_{28}ClNO_2$, Calc. % : N 4,30 ; Tr. 4,25.

b) N(R', R'') = pyrrolidine

Chlorhydrate du (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionate d'isobutyle



C'est le deuxième produit pharmacologiquement intéressant de notre série.

Le chlorhydrate précipite par barbotage d'acide chlorhydrique gaseux, sec, dans la solution éthérée de la base.

Le produit est trop soluble dans le propanol. Il est donc recristallisé dans l'acétone.

F = 152°.

Rendement (après deux recristallisations) = 35 %.

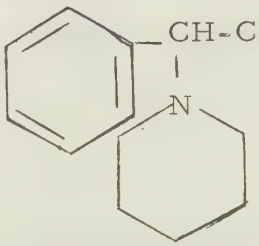
Analyse : $C_{17}H_{26}ClNO_2$, Calc. % : C 65,49 H 8,34 N 4,49
Tr. 65,39 8,32 4,58.

7) R = $-CH(CH_3)(C_2H_5)$ Cinnamate de sec. butyle (40).

$C_6H_5-CH=CH-COO-CH(CH_3)(C_2H_5)$ Eb_{25} = 90-92°.

a) N(R', R'') = pipéridine.

Chlorhydrate de (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de sec. butyle



$CH-CH_2-COO-CH(CH_3)(C_2H_5)$

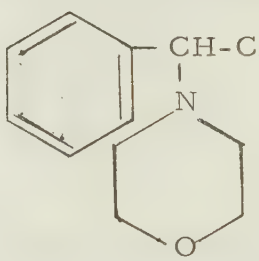
, HCl

Le chlorhydrate précipite dans la solution aqueuse.
F = 173° (méthyléthylcétone).
Rendement (après deux recristallisations) = 22 %.

Analyse : $C_{18}H_{28}ClNO_2$, Calc. % : N 4,30 ; Tr. 4,30.

b) N(R', R'') = morpholine.

Chlorhydrate du (morpholinyl-4)-3 phényl-3 propionate de sec. butyle



$CH-CH-COO-CH(CH_3)(C_2H_5)$

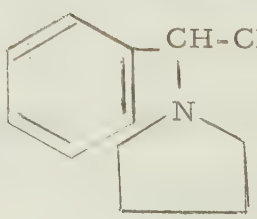
, HCl

Le chlorhydrate précipite dans la solution aqueuse.
F = 175° (méthyléthylcétone).
Rendement (après deux recristallisations) = 11 %.

Analyse : $C_{17}H_{26}ClNO_3$, Calc. % : C 62,29 H 7,92 N 4,27
Tr. 62,24 8,08 4,22.

c) N (R', R'') = pyrrolidine

Chlorhydrate du (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionate de sec. butyle

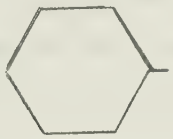


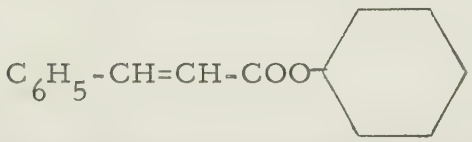
$CH-CH_2-COO-CH(CH_3)(C_2H_5)$

, HCl

Le chlorhydrate précipite dans la solution aqueuse.
F = 153° (alcool absolu).
Rendement (après une recristallisation) = 50 %.

Analyse : $C_{17}H_{26}ClNO_2$, Calc. % : C 65,49 H 8,34 N 4,49
Tr. 65,26 8,57 4,68.

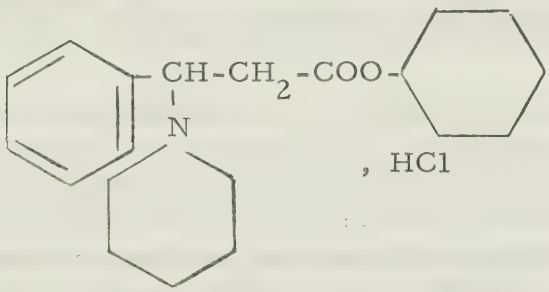
8) R =  Cinnamate de cyclohexyle (39).



Eb_{12} = 195°

N(R', R'') = pipéridine.

Chlorhydrate du (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de cyclohexyle



Le chlorhydrate précipite dans la solution aqueuse.
F = 194° (propanol).
Rendement (après une recristallisation) = 40 %.

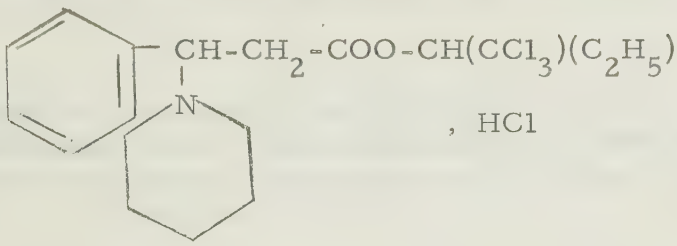
Analyse : $C_{20}H_{30}ClNO_2$, Calc. % : C 68,27 H 8,53 N 3,98
Tr. 68,19 8,72 3,98.

9) R = $-CH(CCl_3)(C_2H_5)$ Cinnamate de trichlorobutyle

$C_6H_5-CH=CH-COO-CH(CCl_3)(C_2H_5)$ F = 80-81°.

N(R', R'') = pipéridine

Chlorhydrate du (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de trichlorobutyle



Le chlorhydrate précipite immédiatement, dès l'addition de la solution d'acide chlorhydrique 3 N.

Il recristallise facilement dans le propanol.
Fusion peu franche à 213°.
Le produit se présente en poudre très légère.
Rendement (après une recristallisation) = 45 %.

Analyse : $C_{18}H_{25}Cl_4NO_2$, Calc. % : C 50,35 H 5,82 N 3,26
Tr. 50,24 5,80 3,28.

B - ADDITION SUR DES ESTERS AMINES DE L'ACIDE CINNAMIQUE

$R = -CH_2-CH_2-N(C_2H_5)_2$

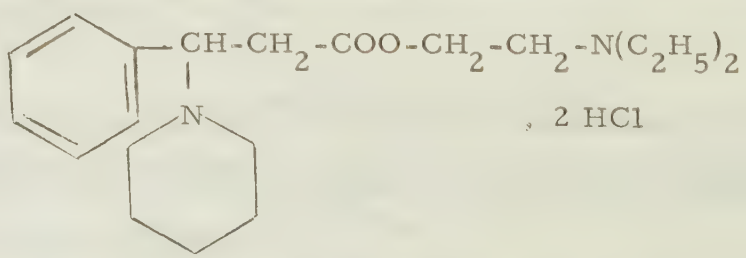
Cinnamate de diéthylaminoéthyle $C_6H_5-CH=CH-COO-CH_2-CH_2-N(C_2H_5$

Préparation - 55 g (1/2 mole) de cinnamate de sodium sont mis en suspension dans 250 ml d'acétone ordinaire. 1/2 mole de chlorhydrate du chlorure de diéthylaminoéthyle y est ajoutée avec 1/2 mole de soude en pastilles, destinée à déplacer la base azotée. Le mélange est chauffé 12 heures à reflux. Le pH est neutre. L'acéton est évaporée sous vide. On ajoute un peu de bicarbonate de sodium pour que le milie soit alcalin (environ pH 9) et on reprend par de l'éther. L'éther est séché sur sulfat de sodium anhydre, filtré puis évaporé. Le résidu est rectifié ; on recueille le cinnamate, $Eb_{0,8} = 145°$.

Le chlorhydrate de cet ester connu pour son effet narcotique fond à 135° (36).

a) N(R', R'') = pipéridine.

Dichlorhydrate du (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de diéthylaminoéthyle



12 g de cinnamate sont condensés avec de la pipéridine, par chauffage pendant 8 heures au bain-marie à 80° avec trois fois la quantité théorique de pipéridine. L'excès de pipéridine est chassé sous vide. Le résidu est repris par

100 ml d'éther sec dans lequel on fait barboter de l'acide chlorhydrique gazeux sec. Le dichlorhydrate précipite, il est assez visqueux. Dissous dans l'acétone anhydre, il cristallise bien, mais purifié, il devient très peu soluble dans l'acétone. Le propanol donne un précipité un peu pâteux. On emploie, alors, un mélange 50/50 de propanol et d'acétone anhydre.

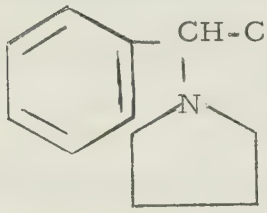
F = 195°.

Rendement (après deux recristallisations) = 25 %.

Analyse : $C_{20}H_{34}Cl_2N_2O_2$, Calc. % : C 59,26 H 8,39 N 6,91
Tr. 59,10 8,49 7,07.

b) N(R', R'') = pyrrolidine

Dichlorhydrate du (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionate de diéthylaminoéthyle



$CH-CH_2-COO-CH_2-CH_2-N(C_2H_5)_2$

, 2 HCl

Même précaution que pour la pipéridine, le dichlorhydrate visqueux précipite par barbotage de l'acide chlorhydrique sec dans la solution éthérée.

Il faut trois recristallisations dans un mélange propanol-acétone anhydre pour avoir un produit correct, Rendement = 18 %.

F = 184°.

Analyse : $C_{19}H_{32}Cl_2N_2O_2$, Calc. % : C 58,31 H 8,18 N 7,16
Tr. 58,28 8,30 7,11.

C - ADDITION SUR DES ESTERS ETHEROXYDES DE L'ACIDE CINNAMIQUE.

$R = -CH_2-CH_2-OR_1$

Cinnamate d'alcoxyéthyle $C_6H_5-CH=CH-COO-CH_2-CH_2-OR_1$

Préparation - L'alcoxyéthanol (11) est obtenu en faisant passer la monochlorhydrine du glycol dans l'alcool approprié dans lequel on a dissout une molécule de sodium à une température de 35-40°.

R_1 = éthoxyéthanol	Eb = 136°
= butoxyéthanol	Eb = 170°6
= isobutoxyéthanol	Eb = 158°8

Après addition lente de l'éther-oxyde au chlorure de cinnamoyle, on chauffe pendant 3 heures au bain-marie bouillant. Le mélange est repris à l'eau, et extrait à l'éther. La solution éthérée est séchée, l'éther est évaporé et le résid rectifié.

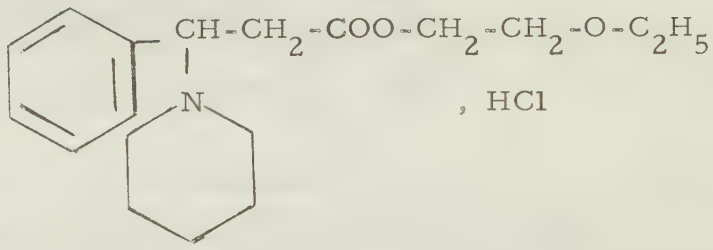
Cinnamate d'éthoxyéthyle $Eb_{14} = 177°$
" de butoxyéthyle $Eb_{12} = 194°$
" d'isobutoxyéthyle $Eb_{11} = 188°$

1) R = $-CH_2-CH_2-O-C_2H_5$

Cinnamate d'éthoxyéthyle $C_6H_5-CH=CH-COO-CH_2-CH_2-O-C_2H_5$

a) N(R', R'') = pipéridine.

Chlorhydrate du (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate d'éthoxyéthyle



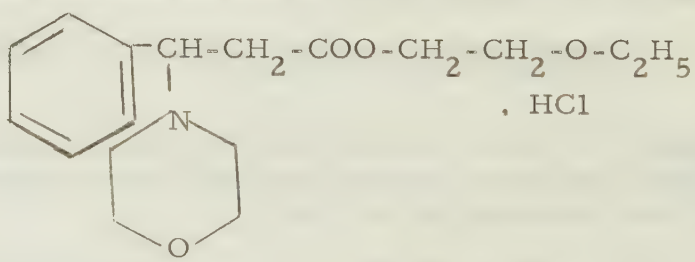
La condensation se fait de façon classique. Le chlorhydrate précipite par barbotage d'acide chlorhydrique gazeux dans la solution éthérée de la base. Il cristallise bien dans l'acétone anhydre.

Rendement (après deux recristallisations) = 25 %.
F = 140°.

Analyse : $C_{18}H_{28}ClNO_3$, Calc. % : C 63,25 N 8,19 N 4,09
Tr. 63,32 8,29 4,08.

b) N(R', R'') = morpholine.

Chlorhydrate du (morpholinyl-4)-3 phényl-3 propionate d'éthoxyéthyle

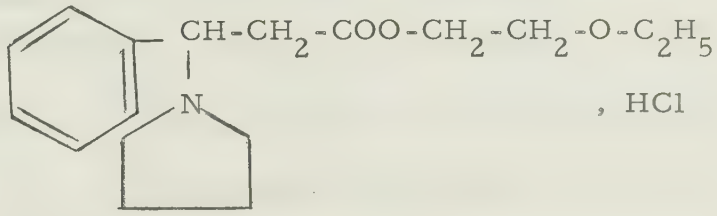


F = 145° (alcool absolu).
Rendement (après deux recristallisations) = 30 %.

Analyse : $C_{17}H_{26}ClNO_4$, Calc. % : C 59,39 H 7,56 N 4,07
Tr. 59,52 7,45 4,18.

c) N(R', R'') = pyrrolidine

Chlorhydrate du (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionate d'éthoxyéthyle.



Le chlorhydrate est beige sale et difficile à recristalliser.
F = 90° (alcool absolu).
Rendement (après deux recristallisations) = 18 %.

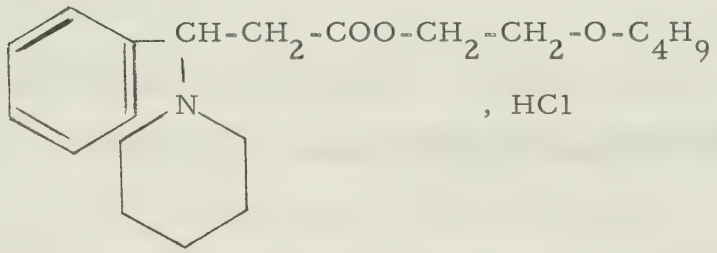
Analyse : $C_{17}H_{26}ClNO_3$, Calc. % : C 62,29 H 7,93 N 4,27
Tr. 61,44 7,88 4,25.

2) R = $-CH_2-CH_2-O-C_4H_9$

Cinnamate de n-butoxyéthyle $C_6H_5-CH=CH-COO-CH_2-CH_2-O-C_4H_9$

a) N(R', R'') = pipéridine.

Chlorhydrate du (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de n-butoxyéthyle

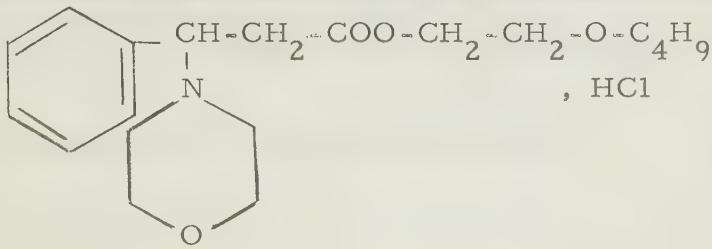


F = 128° (alcool absolu).
Rendement (après deux recristallisations) = 27 %.

Analyse : $C_{20}H_{32}ClNO_3$, Calc. % : C 64,95 H 8,66 N 3,79
Tr. 64,14 8,81 4,01.

b) N(R', R'') = morpholine.

Chlorhydrate du (morpholinyl-4)-3 phényl-3 propionate de n-butoxyéthyle

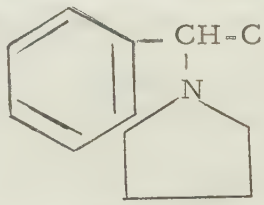


La base est visqueuse.
Le chlorhydrate précipite bien dans la solution éthérée.
F = 130° (alcool absolu).
Rendement (après deux recristallisations) = 32 %.

Analyse : $C_{19}H_{30}ClNO_4$, Calc. % : C 61,35 H 8,07 N 3,76
Tr. 61,54 8,19 3,80.

c) N(R', R'') = pyrrolidine.

Chlorhydrate du (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionate de n-butoxyéthyle



$-CH-CH_2-COO-CH_2-CH_2-O-C_4H_9$
N
, HCl

Le chlorhydrate obtenu dans l'éther est liquide. Repris par l'alcool, il ne cristallise pas. Après évaporation de l'alcool, il est chauffé sous vide au bain-marie, en présence d'anhydride phosphorique. Le résidu, repris par de l'acétone anhydre, précipite. Néanmoins, le chlorhydrate étant particulièrement hygroscopique, il sera impossible d'avoir une analyse correcte :

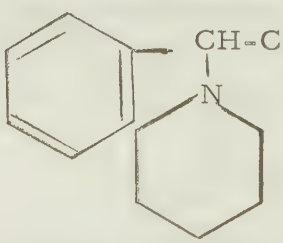
température de ramollissement : 80°
température de fusion : 110°.

3) R = $-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH(CH_3)_2$

Cinnamate d'isobutoxyéthyle $C_6H_5-CH=CH-COO-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH(CH_3)_2$

a) N(R', R'') = pipéridine.

Chlorhydrate du (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate d'isobutoxyéthyle



$-CH-CH_2-COO-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH(CH_3)_2$
N
, HCl

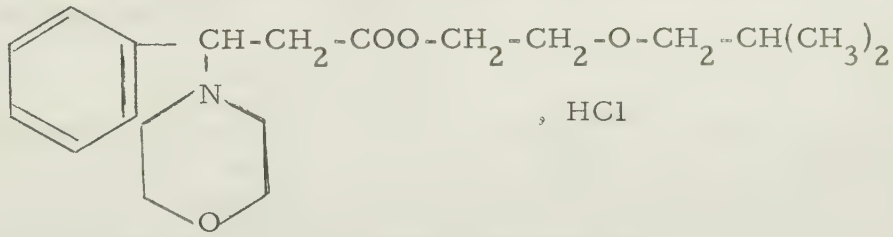
Le chlorhydrate précipite dans la solution aqueuse d'acide chlorhydrique. Il recristallise dans un mélange d'alcool absolu et d'éther anhydre.

F = 136°
Rendement (après une recristallisation) = 28 %.

Analyse : $C_{20}H_{32}ClNO_3$, Calc. % : C 64,95 H 8,66 N 3,79
Tr. 64,83 8,74 4,00

b) N(R', R'') = morpholine

Chlorhydrate du (morpholinyl-4)-3 phényl-3 propionate d'isobutoxyéthyle



Le chlorhydrate précipite de la solution aqueuse au moment même où l'on commence à neutraliser avec du bicarbonate de sodium. Il recristallise dans un mélange d'alcool et d'éther sec, puis d'acétone anhydre pour la deuxième recristallisation.

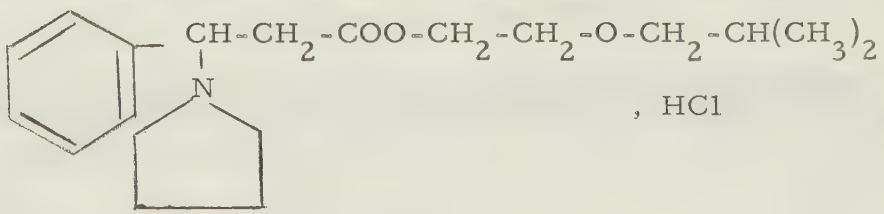
F = 130°.

Rendement (après deux recristallisations) = 30 %.

Analyse : $C_{19}H_{30}ClNO_4$, Calc. % : C 61,37 H 8,07 N 3,76
Tr. 59,02 8,09 4,19.

c) N(R', R'') = pyrrolidine

Chlorhydrate du (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionate d'isobutoxyéthyle



Le chlorhydrate obtenu par barbotage d'acide chlorhydrique gazeux dans la solution éthérée est très visqueux, F = 78° (acétone anhydre).

Rendement (après une recristallisation) = 18 %.

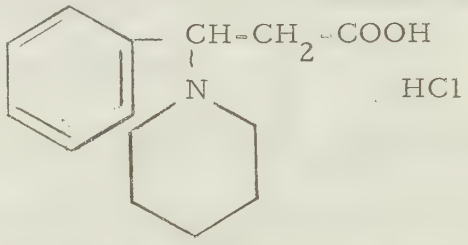
Comme pour le (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionate de n-butoxyéthyle, il est extrêmement hygroscopique et nous n'obtiendrons pas une analyse correcte.

D - ACIDES AMINES

R = H Acide cinnamique C_6H_5-CH=CH-COOH

a) N(R', R'') = pipéridine

Chlorhydrate de l'acide (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionique



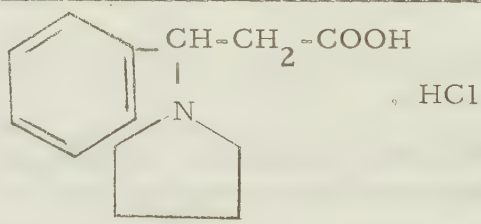
Les essais d'addition de la pipéridine sur l'acide cinnamique par notre méthode habituelle ne donnent rien. Il a fallu procéder différemment et hydrolyser le (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de n-butyle en milieu alcalin. Pour cela, le produit est chauffé avec de la potasse en solution dans l'alcool à 50 %. Après 1/2 heure d'ébullition, l'alcool est chassé et le résidu est repris par l'eau.

Le cinnamate non saponifié est extrait à l'éther. Le résidu est acidifié puis lavé à l'éther pour éliminer l'acide cinnamique formé. La solution acide d'où sont chassées les traces d'éther est placée dans le réfrigérateur. Le lendemain, on a un beau précipité blanc.

F = 135° (méthyléthylcétone).
Rendement = 50 %/
Analyse : $C_{14}H_{20}ClNO_2$, Calc. % : C 62,33 H 7,42 N 5,19
Tr. 61,77 7,45 5,34.

b) N(R', R'') = pyrrolidine

Chlorhydrate de l'acide (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionique



Même préparation que pour le dérivé pipéridylé mais à partir du (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionate d'isobutyle.

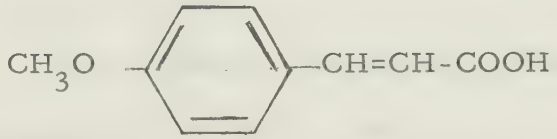
La cristallisation du chlorhydrate dans la solution aqueuse met cinq jours à se faire. Le chlorhydrate se présente en gros cristaux translucides qui, recristallisés dans l'alcool absolu, fondent à 190°. Rendement 48 %.

Analyse : $C_{13}H_{18}ClNO_2$, Calc. % : C 61,05 H 7,04 N 5,48
Tr. 60,90 7,08 5,64.

Nous verrons par la suite, l'intérêt primordial de cette hydrolyse puisque nous la retrouverons dans le métabolisme de ces esters par le foie de rat.

II - $R''' = CH_3O$; $R'''' = H$

Acide méthoxy-4 cinnamique



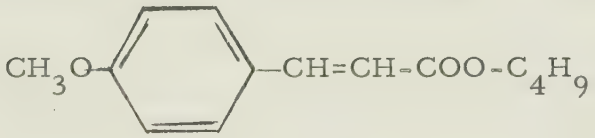
Préparation (13)

0,4 mole d'aldéhyde anisique, 0,4 mole d'anhydride acétique et 0,2 mole d'acétate de sodium fondu sont condensées par chauffage à reflux pendant 20 heures. Le mélange est repris par 750 ml d'eau, puis l'eau et l'acide acétique formé sont distillés. Le distillat contient une huile blanchâtre. Il faut distiller environ 1 l d'eau pour qu'il n'en contienne plus. Le résidu est neutralisé au carbonate de sodium porté 2 minutes à l'ébullition et filtré pour éliminer les gommes formées. Le filtrat est acidifié avec environ 40 ml d'acide chlorhydrique. Le produit précipite, F = 170°

Le rendement n'est que de 20 % car la réaction a été faite à pression ordinaire et non sous pression comme l'indique PERKIN.

$R = -C_4H_9$

Méthoxy-4 cinnamate de n-butyle



Préparation

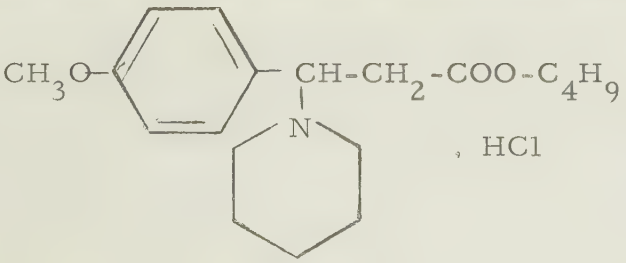
Suivant le procédé indiqué pour le cinnamate de butyle (8), on dissout le chlorure d'acide (F = 50°) dans du benzène en présence de pipéridine et on ajoute du butanol.

$Eb_{0,1} = 140°$.

Rendement = 40 %.

N(R', R'') = pipéridine.

Chlorhydrate du (pipéridyl-1)-3 (méthoxy-4 phényl)-3 propionate de n-butyle



Par barbotage d'acide chlorhydrique gazeux dans la solution éthérée d
la base, un chlorhydrate huileux, très hygroscopique, se forme. Il est très diffi-
cile à cristalliser ; il précipite finalement dans un mélange d'éther sec et d'acéto
anhydre.

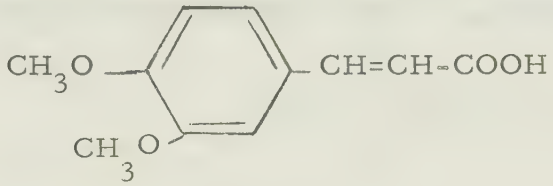
F = 152°.

Rendement (produit recristallisé) = 5 %.

Analyse : $C_{19}H_{30}ClNO_3$,	Calc. % :	C	64,10	H	8,48	N 3,94
	Tr.		62,90		8,29	4,05.

III - $R''' = R'''' = CH_3O$

Acide diméthoxy-3,4 cinnamique



Préparation -

L'aldéhyde vératrique nécessaire est préparé (14) à partir de la vanilline. 25 g de vanilline sont dissous dans 75 ml d'alcool méthylique, puis mélangés à 7 g de soude dissous dans le minimum d'eau. Le sulfate de méthyle est alors ajouté : 25 g rapidement puis 20 g plus lentement. On additionne de temps en temps de la soude pour que le mélange reste alcalin. Après 1 h 1/2, le mélange est dilué dans 6-7 volumes d'eau. Le précipité est filtré, lavé, séché.

F = 43° ; Rendement = 64 %.

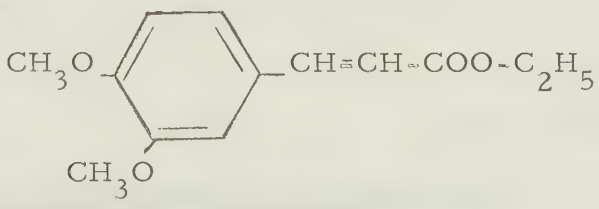
A partir de l'aldéhyde vératrique, l'acide diméthoxycinnamique peut être obtenu de deux façons :

a) Procédé rapide à partir de l'acide malonique (15) : 10 g d'aldéhyde vératrique et 15 g d'acide malonique sont condensés ensemble dans une solution de 25 ml de pyridine et 0,5 ml de pipéridine. Le mélange est chauffé 1 h 1/2 au bain-marie puis 10 minutes à l'ébullition et enfin versé dans l'acide chlorhydrique dilué ;

b) Procédé plus long selon PERKIN (16) : 10 g d'aldéhyde bien mélangés avec 10 g d'acétate de sodium anhydre sont chauffés 20 heures à reflux avec 30 g d'anhydride acétique. La masse brune est diluée avec de l'eau, l'excès d'acide acétique chassé par distillation avec la vapeur d'eau. On alcalinise, refroidit, filtre l'aldéhyde non transformé. Le filtrat est acidifié, l'acide précipite, F = 180°.

1) $R = C_2H_5$

Diméthoxy-3,4 cinnamate d'éthyle

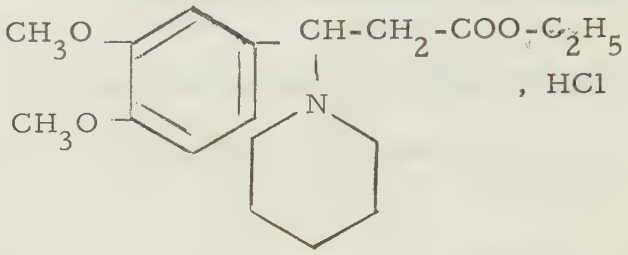


Préparation - Le chlorure de l'acide est préparé à l'aide de chlorure de thionyle, puis le chlorure est traité par l'éthanol.

Eb_3 = 182° ; F = 59°.
(Littérature : Eb_{13} = 196° ; F = 59°).

a) N(R', R'') = pipéridine

Chlorhydrate du (pipéridyl-1)-3 (diméthoxy-3, 4 phényl)-3 propionate d'éthyle



Condensation suivant le mode classique. Le chlorhydrate visqueux, obtenu dans la solution éthérée de la base cristallise dans l'acétone anhydre, puis dans l'alcool absolu. Il est très hygroscopique.

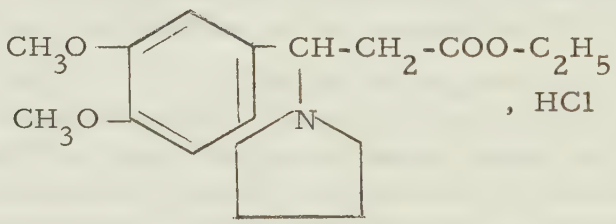
F = 167°.

Rendement (après deux recristallisations) = 8 %.

Analyse : $C_{18}H_{28}ClNO_4$, Calc. % : C 60,41 H 7,83 N 3,92
Tr. 59,92 8,32 4,14.

b) N(R', R'') = pyrrolidine

Chlorhydrate du (pyrrolidyl-1)-3 (diméthoxy-3, 4 phényl)-3 propionate d'éthyle



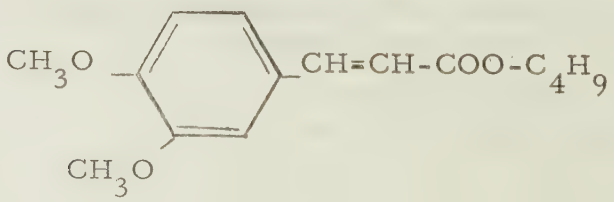
Le chlorhydrate visqueux obtenu dans la solution éthérée de la base, cristallise dans l'alcool absolu. Il faut trois recristallisations pour avoir un produit correct.

F = 158° ; Rendement (après trois recristallisations) = 6 %.

Analyse : $C_{17}H_{26}ClNO_4$, Calc. % : C 59,38 H 7,56 N 4,07
Tr. 59,14 7,62 4,22.

2) R = C_4H_9

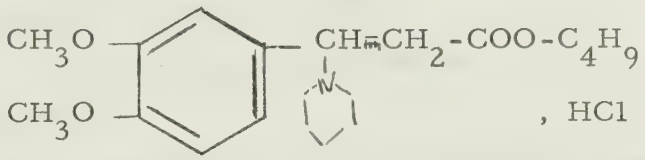
Diméthoxy-3, 4 cinnamate de n-butyle



Eb_4 = 190° ; très visqueux.

N(R', R'') = pipéridine

Chlorhydrate du (pipéridyl-1)-3 (diméthoxy-3, 4 phényl)-3 propionate de n-butyle



Condensation classique.

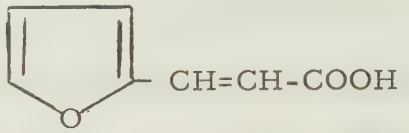
Le chlorhydrate obtenu dans la solution éthérée de la base est très visqueux, après plusieurs lavages à l'éther sec, il cristallise dans l'acétone anhydre, puis dans le propanol.

F = 135°.

Rendement (après trois recristallisations) = 7 %.

Le produit est extrêmement hygroscopique, les résultats des analyses sont incorrects.

IV - LE NOYAU PHENYLE EST REMPLACE PAR SON ISOSTERE FURYLE



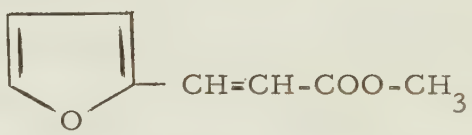
Acide furyl-2 acrylique

Préparation - (17)

Une mole de furfural (96 g), fraîchement distillé est ajoutée à un mélang d'une mole d'acétate de potassium (98 g) et 1,5 mole d'anhydride acétique (149 g, 140 ml). Le mélange est chauffé doucement en agitant. Quand la température atteint 145°, une vive réaction se produit. Le chauffage est arrêté un moment, puis repris sans interruption pendant 4 heures. Le mélange refroidi est versé dans 1 litre d'eau. Le liquide est porté à l'ébullition avec du noir végétal, filtré à chaud et acidifié avec de l'acide chlorhydrique à 50 %. On obtient un précipité, fondant après séchage à 138°.

1) R = $-CH_3$

Furyl-2 acrylate de méthyle

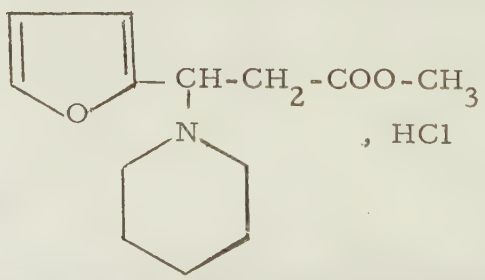


Le chlorure d'acide (F = 34°, Eb_{10} = 105-106°) est traité par le méthanol (45).

F = 25° ; $Eb_{1,7}$ = 80-85°.

N(R', R'') = pipéridine.

Chlorhydrate du (pipéridyl-1)-3 (furyl-2)-3 propionate de méthyle



Le chlorhydrate obtenu dans la solution éthérée de la base est très visqueux. Lavage à l'éther, essais de recristallisation, séchage sous grand vide ne donnent rien. Finalement, en le dissolvant dans une large quantité d'acétone anhyre, en rajoutant de l'éther sec jusqu'à obtention d'un léger trouble et en le plaçant à -10°, on obtient un précipité blanc sale qui devient presque insoluble dans l'acétone

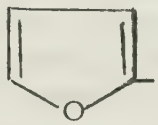
anhydre et qui recristallise dans le propanol. Son hygroscopicité empêche l'obtention de résultats analytiques corrects.

F = 190° ; Rendement (après recristallisation) = 5 %.

Analyse : $C_{13}H_{20}ClNO_3$, Calc. % : C 56,62 H 7,26 N 5,08
Tr. 55,36 7,22 5,16.

2) R = C_2H_5

Furyl-2 acrylate d'éthyle

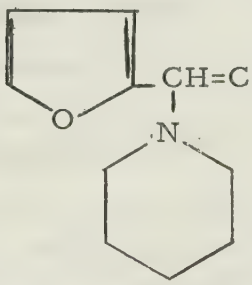


$CH=CH-COO-C_2H_5$ (48)

$Eb_{1,7}$ = 90° ; F = 11°.

N(R', R'') = pipéridine

Chlorhydrate du (pipéridyl-1)-3 (furyl-2)-3 propionate d'éthyle



$CH=CH_2-COO-C_2H_5$

, HCl

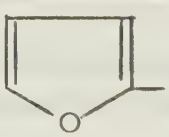
Le chlorhydrate obtenu dans la solution éthérée de la base est pâteux. Après deux lavages à l'éther sec, il a un aspect cristallisé, beige. Dissous dans l'acétone anhydre, il donne de jolis cristaux blancs qu'on recristallise dans le propanol, F = 140°.

Rendement (après recristallisation) = 8 %.

Analyse : $C_{14}H_{22}ClNO_3$, Calc. % : C 58,43 H 7,65 N 4,87
Tr. 58,53 7,94 4,75.

3) R = C_3H_7

Furyl-2 acrylate de n-propyle

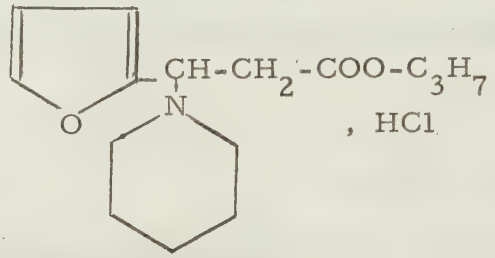


$CH=CH-COO-C_3H_7$

Eb_2 = 110° (46).

N(R', R'') = pipéridine

Chlorhydrate du (pipéridyl-1)-3 (furyl-2)-3 propionate de n-propyle



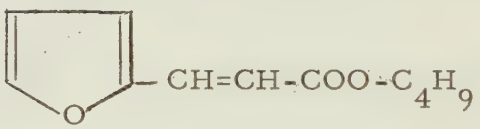
Le chlorhydrate obtenu dans la solution éthérée de la base est une huile épaisse qui, placée une nuit dans le réfrigérateur, donne des cristaux bruns. On les dissout dans du propanol et on insolubilise avec un peu d'éther sec ; on place une nuit à -20°. On obtient des cristaux blancs, F = 120°.

Rendement (après recristallisation) = 7 %.

Analyse : $C_{15}H_{24}ClNO_3$,	Calc. % : C 59,70	H 7,96	N 4,64
	Tr.	59,89	7,89	4,72.

4) R = C_4H_9

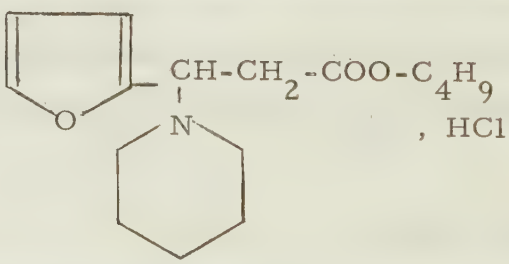
Furyl-2 acrylate de n-butyle



Eb_6 = 105°.

N(R', R'') = pipéridine

Chlorhydrate du (pipéridyl-1)-3 (furyl-2)-3 propionate de n-butyle



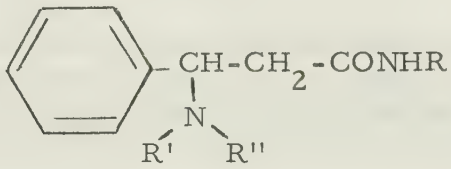
Le chlorhydrate, très visqueux, cristallise difficilement dans un mélange éther sec - acétone anhydre. Il est extrêmement hygroscopique.

Après de grandes difficultés de cristallisation, nous obtiendrons dans deux opérations différentes, de très mauvaises analyses.

F = 170° ; Rendement (après recristallisation) = 5 %.

DEUXIEME CHAPITRE

AMINO-3 PHENYL-3 PROPIONAMIDES



BIBLIOGRAPHIE

Les esters aminés de certains acides régulateurs de croissance des végétaux (42) sont aussi des stimulants du système nerveux central. Au contraire, les amides aminés de ces mêmes acides :

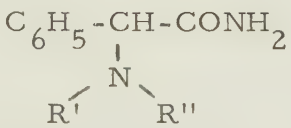
$$R\text{-}CH_2\text{-}CO\text{-}NH\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}N(C_2H_5)_2$$

agissent surtout sur le système nerveux périphérique, ce sont des anesthésiques locaux très puissants et faiblement toxiques.

J. LEVY (1) avait déjà signalé que dans le cas des esters-aminés, le remplacement de l'oxygène par -NH conduit à une diminution du pouvoir spasmolytique atropinique tandis que le pouvoir spasmolytique papavérinique est conservé. En outre, le pouvoir anesthésique local augmente.

Après les aminoesters, nous avons donc pensé étudier les amino-amides correspondants et voir l'évolution de leurs propriétés pharmacologiques.

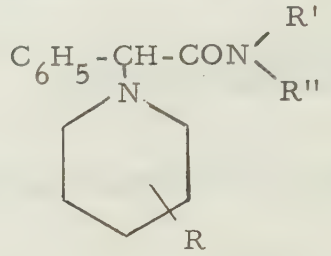
Les propriétés spasmolytiques de l'α-phényl α-pipéridylacétamide étaient déjà signalées par JANSEN en 1954 (6), puis H. NAJER, P. CHABRIER, R. GIUDICELLI et J. SETTE (18) commencèrent une étude plus systématique des α-phényl α-aminoacétamides :



qu'ils préparèrent par hydrolyse des nitriles correspondants.

Plus récemment, en 1959, NAJER et GIUDICELLI étendirent leurs

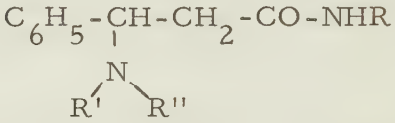
investigations (19) à des amides N-mono- puis, N,N-disubstitués :



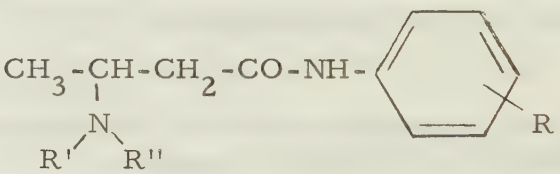
obtenus en faisant agir dans un premier temps le chlorure de l'acide α-phényl α-chloroacétique sur une amine primaire ou secondaire, puis en substituant, dans un deuxième temps, le chlore de l'α-phényl α-chloroacétamide par un reste pipéridinyle.

Ces amides sont doués de propriétés spasmolytiques (essentiellement papavériniques) et anesthésiques locales.

Comme pour les esters, nous nous intéresserons à la série homologue supérieure :



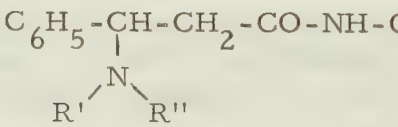
D'autre part, WILDER et SMITH (47) ont préparé des amides aminés dérivant du crotonate :



Or, dans le cas où R' = R'' = C_2H_5 et R = $-COOC_4H_9$, ils obtiennent un dérivé anesthésique local, plus actif que la xylocaïne. Nous avons retenu cette idée de l'enchaînement p-aminobenzoate :

$$-NH-C_6H_4-COO-R$$

et nous avons préparé entre autres, des amides substitués par un reste C_6H_4-COOR



MODE OPERATOIRE GENERAL

Nous utiliserons la réaction d'addition sur les doubles liaisons activées, déjà signalée pour les esters, en additionnant les bases sur les cinnamoylamides.

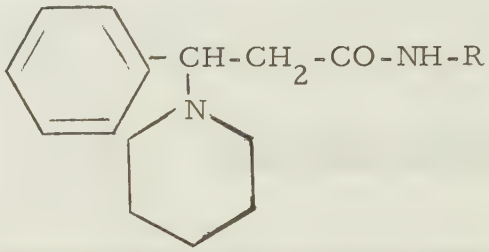
- Les cinnamoylamides :

$$C_6H_5\text{-}CH{=}CH\text{-}CO\text{-}NHR$$

sont préparés par action du chlorure de cinnamoyle sur l'amine primaire correspondante.

- L'amide éthylénique ainsi obtenu est condensé avec la base souhaitée par chauffage à reflux pendant 8 heures ou plus dans un excès de cette base. L'excès de base chassé, le résidu est repris dans de l'éther, le chlorhydrate de l'amine est extrait avec de l'acide chlorhydrique normal. Cette solution chlorhydrique est alcalinisée avec de la soude concentrée en maintenant le mélange dans de la glace. L'amino-amide précipite de cette solution.

Les résultats obtenus sont consignés dans les Tableaux 4, 5 et 6.



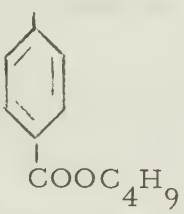
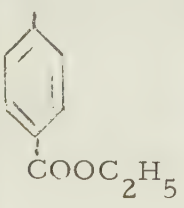
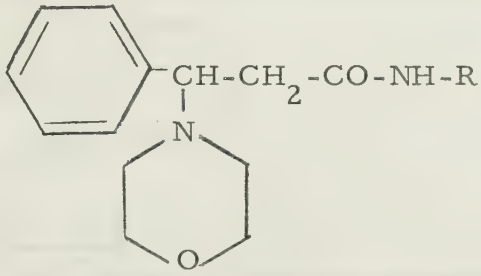
R	Formule brute	P.M.	Analyse Calc. %	Tr. %	F	Solvant recrist.
H	$C_{14}H_{20}ClN_2O$ (Chlorhydrate)	268,5	C 62,57 H 7,82 N 10,42	62,57 7,65 10,95	180°	Alcool + éther sec
	$C_{14}H_{20}N_2O$ (base libre)	232	N 12,07	12,31	152°	Alcool 50 %
$-C_4H_9$	$C_{18}H_{29}ClN_2O$ (Chlorhydrate)	324,5	N 8,62	8,08	110°	Alcool absolu
$-C_6H_5$	$C_{20}H_{24}N_2O$ (baselibre)	308	C 77,92 H 7,71 N 7,10	77,91 7,70 7,64	135°	Alcool 95°
	$C_{25}H_{32}N_2O_3$ (base libre)	408	C 73,53 H 7,84 N 6,86	73,40 8,16 7,00	123°	Alcool absolu
	$C_{23}H_{28}N_2O_3$ (base libre)	380	C 72,63 H 7,37 N 7,37	72,64 7,73 7,71	131°	Alcool absolu

Tableau 4



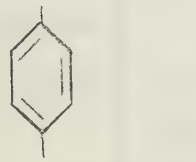
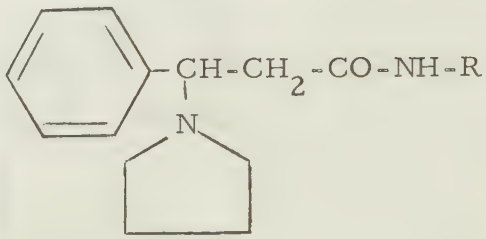
R	Formule brute	P. M.	Analyse Calc. % Tr. %	F.	Solvant recristal.
$-C_6H_5$	$C_{19}H_{22}N_2O_2$	170°	C 73,55 73,33 H 7,09 7,20 N 9,03 9,27	170°	Alcool 95°
	$C_{24}H_{30}N_2O_4$	410°	C 70,24 70,44 H 7,31 7,41 N 6,83 7,09	146°	Alcool absolu
	$C_{22}H_{26}N_2O_4$	382°	C 69,11 68,96 H 6,80 6,87 N 7,33 7,40	137°	Alcool absolu

Tableau 5



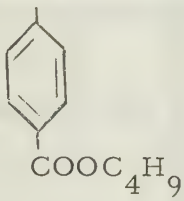
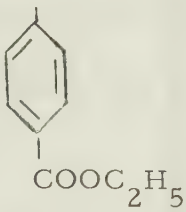
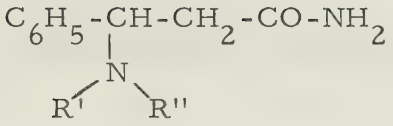
R	Formule brute	P.M.	Analyse Calc. % Tr. %	F.	Solvant recrist.
H	$C_{13}H_{18}N_2O$	218	C 71,56 70,87 H 8,26 8,48 N 12,84 12,26	108°	Alcool 50 %
	$C_{24}H_{30}N_2O_3$	394	C 73,09 72,89 H 7,61 7,70 N 7,10 7,64	118°	Alcool absolu
	$C_{22}H_{26}N_2O_3$	366	C 72,13 71,98 H 7,10 7,08 N 7,65 7,73	116°	Alcool absolu

Tableau 6

PARTIE EXPERIMENTALE

I - R = H



Matière première.

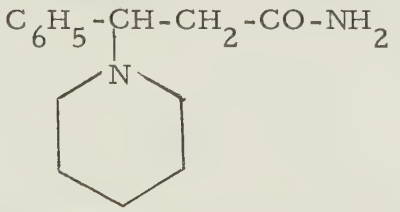
Préparation du cinnamoylamide : $C_6H_5-CH=CH-CO-NH_2$

32 g de chlorure de cinnamoyle fondus sont ajoutés, goutte à goutte, en agitant, à 200 ml d'ammoniaque concentrée, placés dans un erlen refroidi. Il se forme un précipité que l'on essore après 4 heures ; F = 143° (alcool 50 %).

La littérature (41) (action de NH_4OH sur le cinnamate d'éthyle) donne : F = 147°.

1) N(R', R'') = pipéridine.

(Pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionamide



On chauffe pendant 8 heures à reflux, F = 152° (alcool 50 %).

(Le produit cristallise avec de l'eau, il perd son eau de cristallisation à 115° pour fondre ensuite à 152°).

Rendement en produit recristallisé = 50 %.

Analyse : $C_{14}H_{20}N_2O$, Calc. % : N 12,07 ; Tr. 12,31

Pour le Chlorhydrate :

Analyse : $C_{14}H_{21}ClN_2O$, Calc. % : C 62,57 H 7,82 N 10,42
Tr. 62,57 7,65 10,95.

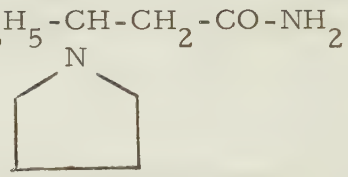
Nous avons préparé ce corps de façon différente mais avec un rendement nettement inférieur (20 %):

Du pipéridyl-3 phényl-3 propionate d'éthyle est dissous dans de l'alcool avec de l'ammoniaque concentrée en excès. Le mélange est bouché, puis laissé 10 jours au moins à température ambiante. En diluant, l'amino-amide précipite, F = 152° (alcool 50 %).

Calc. % : N 12,07 ; Tr. 11,67.

2) N(R', R'') = pyrrolidine.

(Pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionamide



Après 9 heures de chauffage à reflux, l'excès de pyrrolidine est chassé sous vide. Le résidu, très visqueux, est repris par de l'éther. Il faut agiter énergiquement pour dissoudre le résidu et immédiatement le produit précipite en jolis cristaux, F = 108° (alcool 50 %).

Rendement : 60 %.

Le produit est extrêmement hygroscopique. Pendant la pesée, lors de la microanalyse, on observe des variations de poids.

Analyse : $C_{13}H_{18}N_2O$, Calc. % : C 71,56 H 8,26 N 12,84
Tr. 70,87 8,48 12,26.

II - $R = C_4H_9$ — $C_6H_5-CH(N(R')(R''))-CH_2-CO-NH-C_4H_9$

Matière première -

Préparation du N-butylcinnamoylamide :

$$C_6H_5-CH=CH-CO-NH-C_4H_9$$

29,8 g (0,4 mole) de monobutylamine sont ajoutés lentement sous agitation à 33,3 g de chlorure de cinnamoyle (0,2 mole) dissous dans de l'éther sec et maintenus dans un mélange réfrigérant. Après une nuit à température ambiante, un précipité blanc se forme ; il est lavé trois fois à l'eau pour éliminer le chlorhydrate de l'amine formé. Le précipité recristallise dans de l'alcool à 75 % en magnifiques cristaux, F = 85°. Rendement = 65 %.

En concentrant l'éther, on récupère encore de l'amide :

Analyse : $C_{13}H_{17}NO$, Calc. % : N 6,89 ; Tr. 7,12.

1) N(R', R'') = pipéridine.

N, n-Butyl (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionamide

$$C_6H_5-CH(N\text{(pipéridine)})-CH_2-CO-NH-C_4H_9$$

Après 8 heures de chauffage à reflux, l'excès de pipéridine est chassé et le résidu est repris par de l'éther sec. Le chlorhydrate est extrait avec de l'acide chlorhydrique normal. Cette solution chlorhydrique est alcalinisée. L'amide a un aspect huileux ; il est extrait à l'éther ; la solution éthérée est séchée sur sulfate de sodium anhydre. Par barbotage d'acide chlorhydrique gazeux, le chlorhydrate précipite, F = 110° (alcool absolu).

Rendement (après recristallisation) = 20 %.

Chlorhydrate - Analyse : $C_{18}H_{29}ClN_2O$, Calc. % : N 8,62 ; Tr. 8;08.

2) N(R', R'') = pyrrolidine

Nous n'obtiendrons, sous forme cristallisée, ni l'amino-amide, ni son chlorhydrate.

III - R = C_6H_5- C_6H_5-CH(N(R', R''))-CH_2-CO-NH-C_6H_5

Matière première

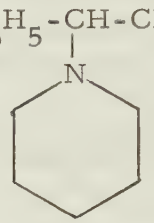
Le cinnamoylanilide (44) :

C_6H_5-CH=CH-CO-NH-C_6H_5

est obtenu par action de l'aniline sur le chlorure de cinnamoyle, F = 150°.

1) N(R', R'') = pipéridine

(Pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionanilide



20 g de cinnamoylanilide sont chauffés à reflux pendant 3heures avec 80 g de pipéridine.

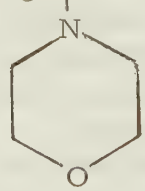
Quand on alcalinise la solution chlorhydrique, l'aminoamide précipite. Le précipité est jaune. Après deux recristallisations dans l'alcool à 95°, il devien blanc, F = 135°.

Rendement (après recristallisations) = 24 %.

Analyse : $C_{20}H_{24}N_2O$, Calc. % : C 77,92 H 7,79 N 9,09
Tr. 77,91 8,08 9,09.

2) N(R', R'') = morpholine

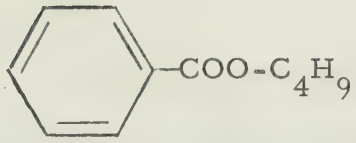
(Morpholinyl-4)-3 phényl-3 propionanilide



F = 170° (alcool 95°).

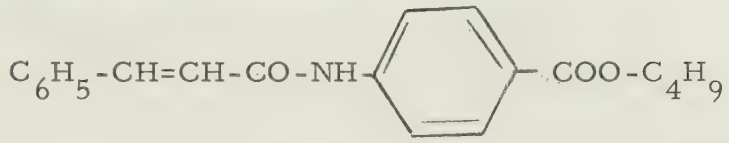
Analyse : $C_{19}H_{22}N_2O_2$, Calc. % : C 73,55 H 7,09 N 9,03
Tr. 73,33 7,20 9,27.

Nous n'avons obtenu aucun résultat à pression normale pour NHR = pipéridine ou urée ; l'addition sur la double liaison ne se fait pas dans les conditions où nous opérons et on retrouve en fin d'opération le cinnamoyluréide ou le cinnamoyl-pipéridide.

IV - R = 

Matière première

p-Cinnamoylamidobenzoate de n-butyle :

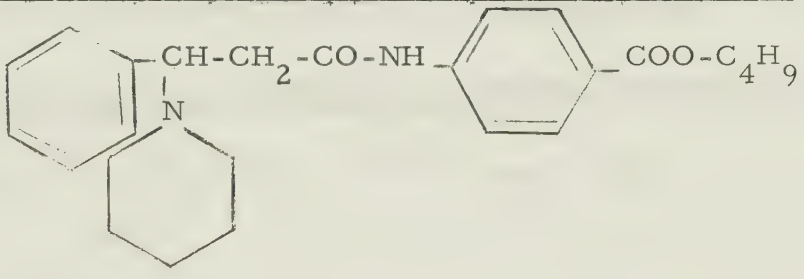


30 g de p-aminobenzoate de n-butyle ($C_{11}H_{15}NO_2$) sont mis en suspension dans de l'eau avec 13 g de bicarbonate de sodium. Puis doucement, en tiédissant, en agitant, on ajoute 25 g de chlorure de cinnamoyle. Quand la réaction est terminée, le précipité est essoré, écrasé dans de l'acide chlorhydrique normal pour éliminer l'excès d'aminobenzoate, essoré de nouveau et rincé à l'eau.
F = 95° (alcool absolu).

Rendement = 50 %.

1) N(R', R'') = pipéridine

N-(Carbo-n-butoxy-4 phényl) (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionamide



L'amide éthylénique est chauffée 3 heures à reflux avec un excès de pipéridine (5 fois plus). L'excès de base est chassé sous vide, au bain-marie. Le résidu est dissous dans un assez grand volume d'éther (400 ml pour 14 g d'amide). La solution éthérée est traitée par de l'acide chlorhydrique 2 N. Il se forme une huile insoluble qui est décantée, reprise dans de l'eau et alcalinisée. On obtient alors un précipité qui est essoré et lavé à l'eau.

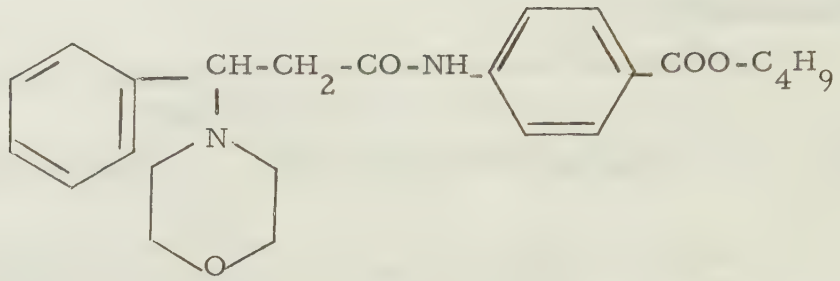
F = 123° (alcool absolu).

Rendement (après recristallisation) = 35 %.

Analyse : $C_{25}H_{32}N_2O_3$,	Calc. % : C	73,53	H 7,84	N 6,86
	Tr.	73,40	8,16	7,00.

2) N(R', R'') = morpholine

N(Carbo-n-butoxy-4 phényl) (morpholinyl-4)-3 phényl-3 propionamide

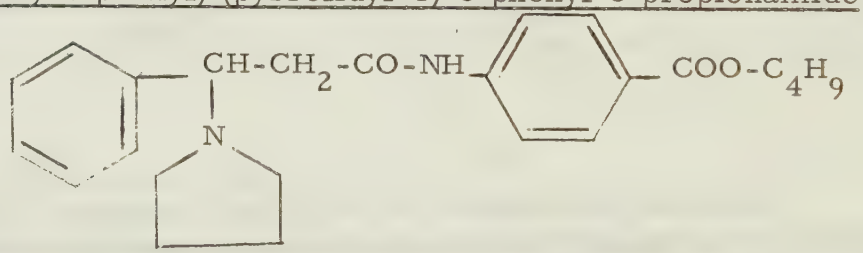


F = 146° (alcool absolu)
Rendement (après recristallisation) = 32 %.

Analyse : $C_{24}H_{30}N_2O_4$,	Calc. % : C	70,24	H 7,31	N 6,83
	Tr.	70,44	7,41	7,09.

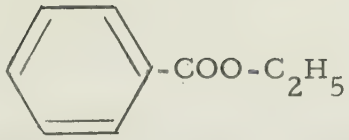
3) N(R', R'') = pyrrolidine

N(Carbo-n-butoxy-4 phényl) (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionamide



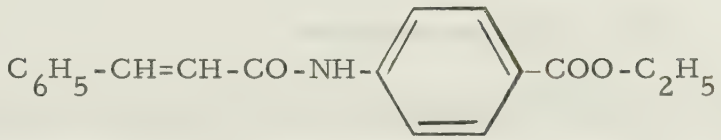
F = 118° (alcool absolu).
Rendement (après recristallisation) = 24 %.

Analyse : $C_{24}H_{30}N_2O_3$,	Calc. % : C	73,09	H 7,61	N 7,10
	Tr.	72,89	7,70	7,64.

V - R = 

Matière première

p-Cinnamoylamidobenzoate d'éthyle



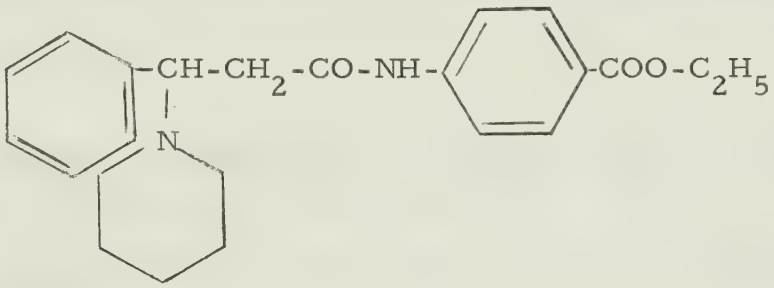
Préparation identique à celle du dérivé butylique, F = 170°.

Mode opératoire -

Comme l'amide de départ est insoluble dans les bases employées et dans les solvants classiques pouvant homogénéiser le milieu, le mode opératoire sera différent du précédent. L'amide est chauffé 10 heures à reflux avec 20 à 30 fois plus de base. L'amide n'ayant pas réagi est filtré. L'excès de base est chassé, puis le résidu visqueux est recristallisé plusieurs fois dans de l'alcool absolu.

1) N(R', R'') = pipéridine

N(carbéthoxy-4 phényl)(pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionamide

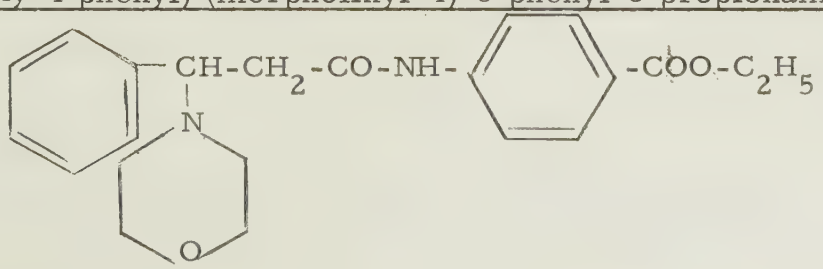


F = 131° ; Rendement = 18 %.

Analyse : $C_{23}H_{28}N_2O_3$, Calc. % : C 72,63 H 7,37 N 7,37
Tr. 72,64 7,73 7,71.

2) N(R', R'') = morpholine

N(carbethoxy-4 phényl) (morpholinyl-4)-3 phényl-3 propionamide



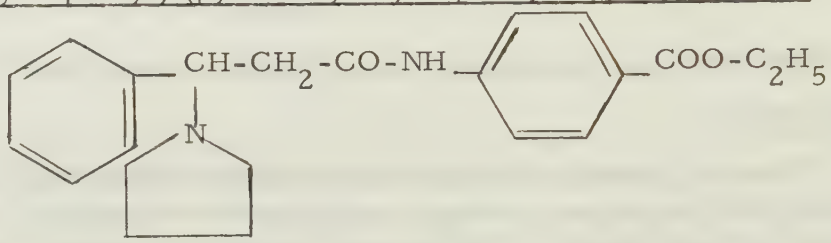
F = 146°.

Rendement = 20 %.

Analyse : $C_{22}H_{26}N_2O_4$, Calc. % : C 69,11 H 6,80 N 7,33
Tr. 68,96 6,87 7,40.

3) N(R', R'') = pyrrolidine

N(Carbethoxy-4 phényl) (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionamide



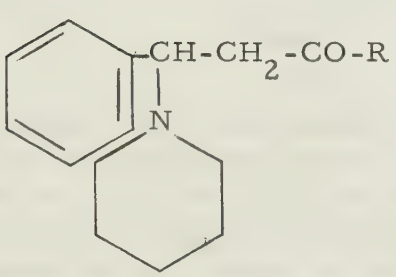
F = 116°.

Rendement = 14 %.

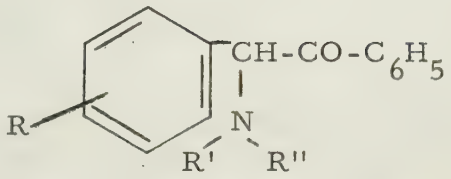
Analyse : $C_{22}H_{26}N_2O_3$, Calc. % : C 72,13 H 7,10 N 7,65
Tr. 71,98 7,08 7,73.

TROISIEME CHAPITRE.

SYNTHESE DES CETONES-AMINES.



et



Nous avons étendu notre réaction d'addition nucléophile aux cétones ayant le même enchaînement phénylpropane.

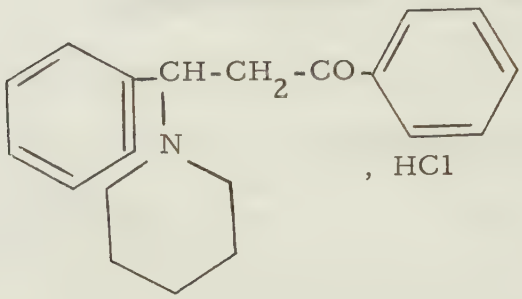
Nous avons additionné la pipéridine sur la benzalacétophénone et sur la benzylidèneacétone.

Nous avons également préparé les mêmes produits dans la série homologue inférieure, par action des amines secondaires cycliques sur le dérivé bromé.

Ces produits sont connus, ils n'ont été préparés que dans le seul but des essais physiologiques.

PARTIE EXPERIMENTALE

1) (Pipéridyl-1)-3 diphényl-1,3 propanone-1 (Chlorhydrate)



Matière première -

Préparation de la chalcone : C_6H_5-CH=CH-CO-C_6H_5

d'après "Organic Syntheses" (23) à partir de benzaldéhyde et d'acétophénone, en présence de soude, F = 57° ; Rendement = 70 %.

Addition de pipéridine -

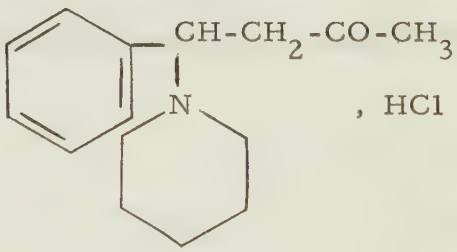
Suivant la technique habituelle. Le chlorhydrate précipite dans la solution aqueuse chlorhydrique.

F = 130° (propanol) ; Rendement = 40 %.

Analyse : $C_{20}H_{34}ClNO$, Calc. % : N 4,25 ; Tr. 4,10.

La littérature (25) donne : F = 123-124°.

2) (Pipéridyl-1)-4 phényl-4 butanone-2 (Chlorhydrate)



Matière première -

Préparation de la benzylidèneacétone : C_6H_5-CH=CH-CO-CH_3

d'après "Organic Syntheses" (24), à partir de benzaldéhyde et d'acétone en présenc de soude. F = 42° ; Rendement = 70 %.

Addition de pipéridine :

On opère suivant la technique habituelle (la cétone avec un excès de base). On obtient, au moment où l'on acidifie la solution éthérée, un précipité abondant d'un corps ne contenant pas d'azote et dont l'analyse élémentaire se rapproche de celle d'une molécule dimérisée de cétone.

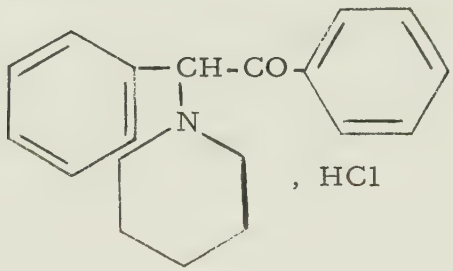
F = 207° (alcool absolu).

Avec la morpholine et la pyrrolidine, nous obtenons le même dérivé dont la constitution n'a pas été déterminée.

Analyse : $C_{20}H_{20}O_2$,	Calc. % :	C	82,19	H 6,82
	Tr.		81,37	7,05

On opére alors suivant la technique décrite dans la littérature (35) : 15g de pipéridine et 20 g de benzylidène-acétone sont dissous dans 70 ml d'éther de pétrole 80-90° et chauffés 14 h à reflux. Après 1 jour 1/2 de repos au froid, la solution est extraite avec 100 ml d'éther. Cette solution éthérée, lavée à l'eau pour éliminer le reste de pipéridine est séchée sur sulfate de sodium anhydre. On fait barboter de l'acide chlorhydrique gazeux, sec et on obtient un précipité qui, dissous dans le minimum d'alcool absolu, cristallise. Il est essoré et séché, F = 160°, Rendement = 60 %.

3) α-(Pipéridyl-1) phénacétophénone (Chlorhydrate)



, HCl

Matières premières

La phénylbenzylcétone : $C_6H_5\text{-}CH_2\text{-}CO\text{-}C_6H_5$

est préparée d'après "Organic Synthèses" (27) à partir du chlorure de l'acide phénylacétique et du benzène en présence de chlorure d'aluminium ; F = 55° ; Rendement : 62 %.

Le dérivé bromé (28) : $C_6H_5\text{-}CHBr\text{-}CO\text{-}C_6H_5$

est préparé par action du brome sur la cétone dans l'éther, F = 50° ; Rendement = 90 %.

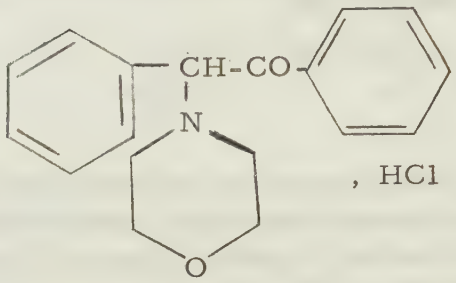
Addition de pipéridine

La cétone bromée (32 g) est chauffée à reflux pendant 4 heures dans du benzène avec la pipéridine (20 g). Le benzène est évaporé ; le résidu, repris par

un peu d'eau est alcalinisé, puis décanté. La couche huileuse est dissoute dans de l'éther qui est séché sur sulfate de sodium anhydre. On y fait barboter de l'acide chlorhydrique gazeux, sec. Le chlorhydrate visqueux précipite. Après lavage à l'éther et à l'acétone anhydre, on obtient un produit cristallisé.

F = 210° ; Rendement = 52 %.

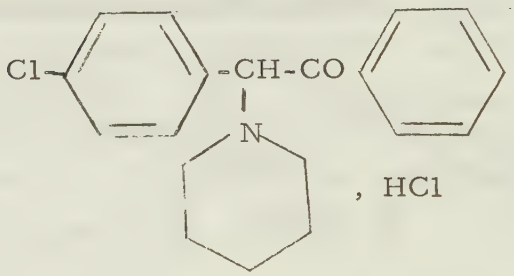
4) α(Morpholinyl-4) phénacétophénone (Chlorhydrate)



Préparation identique à la précédente.

F = 172° ; Rendement = 58 %.

5) α(Pipéridyl-1) chloro-4 phénacétophénone (Chlorhydrate)



Matières premières

On prépare la chloro-4 acétophénone (26) : ClC_6H_4-$COCH_3$ d'après "Organic Syntheses" avec du chlorobenzène et de l'anhydride acétique en présence de chlorure d'aluminium ; Eb_7 = 99° ; F = 20° ; Rendement = 40 %.

L'acide chloro-4 phénylacétique (29) est obtenu par la méthode de transposition et oxydation de Willgerodt ; F = 100° ; Rendement = 10 %.

Le chlorure de l'acide est préparé par action du chlorure de thionyle su l'acide, Eb_{14} = 120°.

Enfin, la chloro-4 phénacétophénone est obtenue comme la phénacétophénone (27) ; F = 133° ; Rendement = 50 % ;

son dérivé bromé est visqueux ; Rendement = 90 %.

Addition de pipéridine -

La méthode est la même que pour la phénacétophénone.

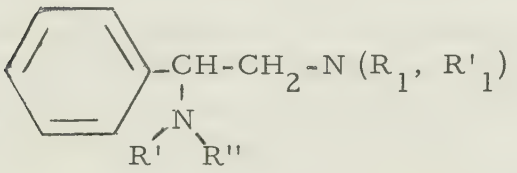
Le chlorhydrate visqueux est lavé à l'éther de pétrole et à l'acétone, puis dissous dans l'alcool absolu où il recristallise ;

F = 215° ; Rendement = 30 %.
(Produit non décrit dans la littérature).

Analyse : $C_{19}H_{21}Cl_2NO$, Calc. % : N 4,00 ; Tr. 3,72.

QUATRIEME CHAPITRE.

SYNTHESE DES DIAMINES.



bis amino-1, 2 phényléthane

INTRODUCTION

La transformation d'un aminoester en diamine apporte une activité antihistaminique tout en conservant une activité spasmolytique intéressante.

J. LEVY (1) montre qu'en remplaçant -C=O par -NH et O par $-CH_2$, elle obtient le corps :

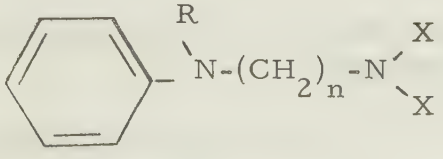
$$(C_6H_5)_2CH\text{-}NH\text{-}(CH_2)_2\text{-}N(CH_3)_2$$

qui a une activité antihistaminique et atropinique alors que l'ester-amine :

$$(C_6H_5)_2CH\text{-}COO\text{-}CH_2\text{-}N(CH_3)_2$$

était uniquement spasmolytique.

Les premiers dérivés antihistaminiques actifs signalés par STAUB et BOVET (12) sont des dérivés de l'éthylènediamine et plus généralement de :

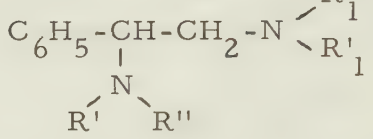


l'activité étant liée à la présence de deux groupes amines tertiaires.

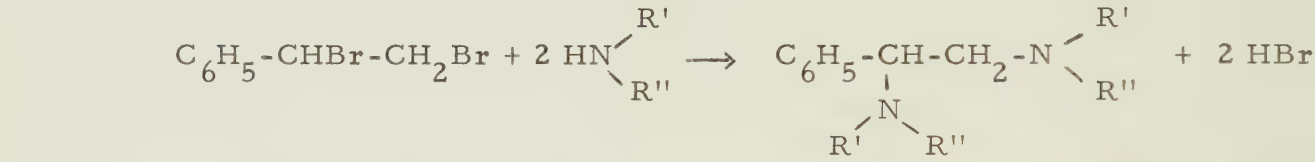
Nous avons donc été conduits à remplacer COOR par $N(R_1, R'_1)$ pour obtenir des diamines et voir l'évolution des propriétés pharmacologiques.

PARTIE THEORIQUE

Nous avons préparé des diamines nouvelles (tableau 7) de formule générale :

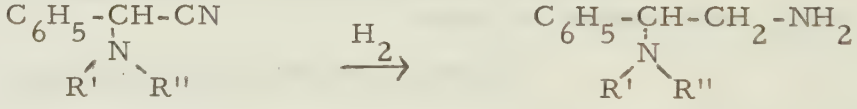


1 - par action de la base azotée $HN(R', R'')$ sur le dérivé dibromé du styrolène, avec élimination d'acide bromhydrique suivant la réaction :



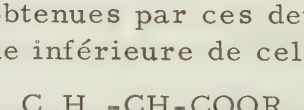
La substitution est faite par chauffage dans un large excès de base. La diamine est libérée par du carbonate de sodium, elle est extraite à l'éther et transformée en dichlorhydrate.

2 - en réduisant un composé à degré d'oxydation supérieur et comportant déjà une amine secondaire :

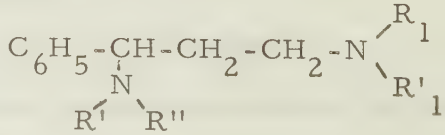


Le pipéridylcyanure de benzyle est réduit par l'hydrure de lithium et d'aluminium.

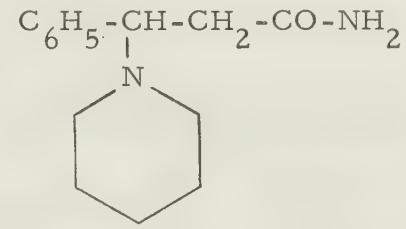
Les diamines obtenues par ces deux méthodes sont les analogues des corps de la série homologue inférieure de celle que nous avons étudiée, à savoir :



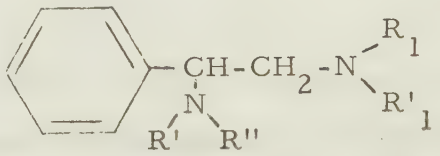
Nous nous proposions de préparer aussi les diamines homologues de la série phényl-3 propionique :



Nous avons essayé de réduire l'amide :



par l'hydrure de lithium et d'aluminium mais sans succès, ce qui nous a incité à ne pas persévérer dans cette voie (l'amide est insoluble dans l'éther, la réaction se fait dans le dioxanne, mais nous n'arrivons pas à obtenir le dichlorhydrate cristallisé, pas plus que le picrate).



, 2 HCl

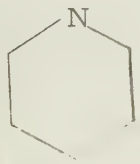
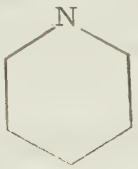
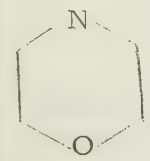
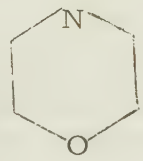
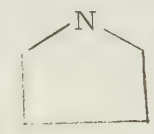
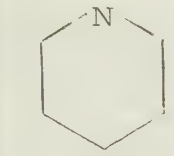
		Formule brute	P.M.	Analyse Calc. % N	Analyse Tr. % N	F.	Solvant recrist.
		$C_{18}H_{30}Cl_2N_2$	345	8,11	8,04	205°	Alcool absolu
		$C_{16}H_{26}Cl_2N_2O_2$	349	8,02	8,01	215°	Alcool absolu
		$C_{16}H_{26}Cl_2N_2$	317	8,83	8,90	215°	Alcool absolu (difficile)
	NH_2	$C_{13}H_{22}Cl_2N_2$	277	10,10	9,47	195-200°	Alcool absolu

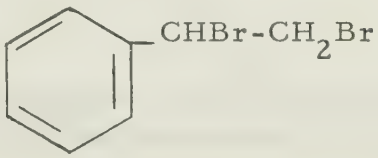
Tableau 7

PARTIE EXPERIMENTALE

I - DIAMINE SYMETRIQUES

$$N(R_1, R'_1) = N(R', R'')$$

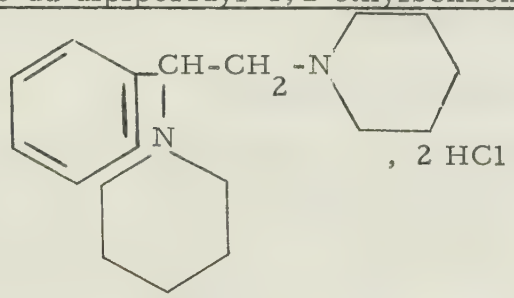
Matière première - Dibromo-1,2 styrolène :



obtenu (43) par action du brome sur le styrolène dans l'éther, F = 74°.

1) N(R', R'') = pipéridine

Dichlorhydrate du dipipéridyl-1,2 éthylbenzène



100 g de dibromostyrolène sont chauffés pendant 6 heures au bain-mari bouillant avec 100 g (7 fois plus) de pipéridine, ajoutés lentement et en agitant. Le mélange est versé ensuite dans 250 ml d'eau. On ajoute du carbonate de sodium en excès par rapport à la quantité d'acide bromhydrique formé. Cette solution est extraite avec quatre fois 250 ml d'éther ; la solution éthérée est lavée à l'eau, pui séchée sur sulfate de sodium anhydre. On filtre, évapore l'éther et l'excès de pipéridine restant. Le résidu est repris à l'éther sec, on y fait barboter de l'acide chlorhydrique gazeux sec. Il se forme un précipité brun et collant. Repris dans le minimum d'alcool absolu, le dichlorhydrate précipite.

Après deux recristallisations, le produit est blanc ; F = 205°.

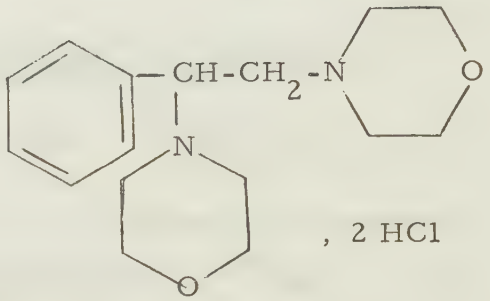
Rendement : 30 %.

Le produit est très hygroscopique. Il est séché dans l'appareil de Bouillaut, en présence d'anhydride phosphorique avec du toluène.

Analyse : $C_{18}H_{30}Cl_2N_2$, Calc. % : N 8,11 ; Tr. 8,04.

2) N(R', R'') = morpholine

Dichlorhydrate du dimorpholinyl-1, 2 éthylbenzène.



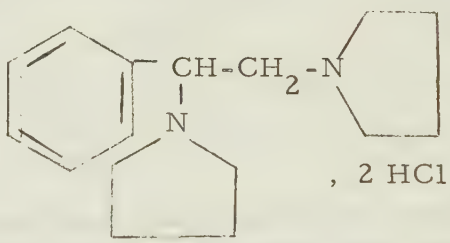
Préparation identique à la précédente. Le dichlorhydrate, mieux cristallisé, précipite dans la solution éthérée. Il est moins hygroscopique, F = 215° (alcool absolu).

Rendement = 35 %.

Analyse : $C_{16}H_{26}Cl_2N_2O_2$, Calc. % : N 8,02 ; Tr. 8,01.

3) N(R', R'') = pyrrolidine.

Dichlorhydrate du dipyrrolidyl-1, 2 éthylbenzène



Même préparation.

Le dichlorhydrate est lavé à l'acétone bouillante, puis recristallisé dans l'alcool absolu, F = 215°.

Rendement = 25 %.

Le corps est très hygroscopique.

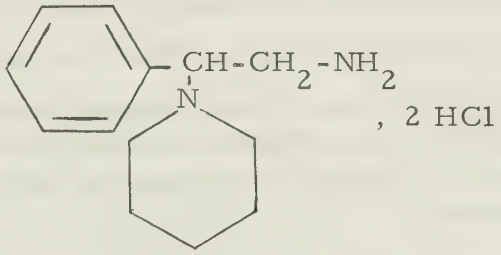
Analyse : $C_{16}H_{26}Cl_2N_2$, Calc. % : N 8,83 ; Tr. 8,90.

Ces trois diamines, chromatographiées sur papier dans l'acide acétique à 60 % et dans le mélange butanol-acide acétique-eau (80-20-100), donnent pour chacune une seule tache nette (révélée au réactif de Draggendorf) (22), les Rf, voisins, se situent entre 0,93 et 0,98, ce qui exclut la possibilité de la présence de monoamine.

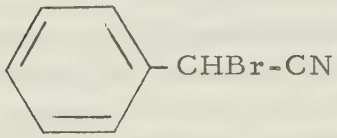
II - DIAMINES ASYMETRIQUES

$N(R_1, R'_1) = NH_2$; N(R', R'') = pipéridine

Dichlorhydrate de la (pipéridyl-1)-2 phényl-2 éthylamine

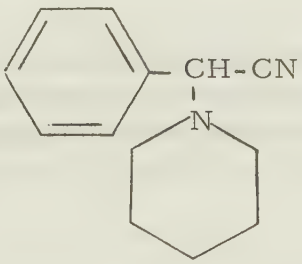


Matières premières : α-bromocyanure de benzyle (20)



Dans un ballon tricol avec réfrigérant, boule à brome et agitation, on introduit 58,5 g (0,5 mole) de cyanure de benzyle qu'on chauffe à 105-110°. 0,55 mole de brome (88 g ou 26 ml) sont ajoutés en 1 heure en maintenant la même température. On ajoute alors 200 ml de benzène et chauffe 1 heure à reflux. Le dégagement d'acide bromhydrique a cessé. On fait barboter de l'air pendant 1/4 d'heure pour chasser le reste d'acide bromhydrique.

α-pipéridylcyanure de benzyle



Dans le même ballon, on rajoute 50 ml de benzène, puis 1 mole (85 g) de pipéridine. Le mélange est chauffé pendant 3 heures à reflux. Il devient épais et visqueux. Le benzène et la pipéridine en excès sont chassés sous vide. Le résid brun est repris par un peu d'eau. Le mélange est très alcalin. La phase huileuse est décantée puis dissoute dans 1/2 litre d'éther qui est séché sur sulfate de sodiu anhydre.

Par barbotage d'acide chlorhydrique gazeux, sec, le chlorhydrate visqueux précipite. Après deux recristallisations dans l'alcool absolu, il fond à 140°, et se sublime dès 120°.

Ce chlorhydrate est dissous dans l'eau, la base est libérée par alcalinisation au carbonate de sodium, elle précipite. Après essorage et séchage, F=64°.

La littérature donne : F = 63-64°.

Réduction de l'α-pipéridylcyanure de benzyle par l'hydrure de lithium et d'aluminium

(Nous nous inspirerons de la réduction du capronitrile) (21).

10 g de base (0,05 mole) sont dissous dans 300 ml d'éther sec et ajoutés goutte à goutte en 1 h 1/2 à 3,8 g d'hydrure dans 100 ml d'éther sec. Après addition l'agitation est maintenue 1/2 heure, ainsi que le reflux, entretenu par un léger chauffage au chauffe-ballon.

Après refroidissement, on ajoute, en maintenant le ballon dans de la glace : 50 ml d'éther humide, 10 ml d'eau, 20 ml de soude à 10 %, 10 ml d'eau. La partie éthérée est décantée, la partie épaisse est essorée, puis lavée deux fois à l'éther. Les couches éthérées sont séchées sur sulfate de sodium anhydre. On chasse une partie de l'éther, puis on y fait barboter de l'acide chlorhydrique gazeux sec. Le dichlorhydrate précipite, F = 195-200° (alcool absolu).

Rendement (après recristallisation) = 10 %.

Le produit est extrêmement hygroscopique; laissé à l'air, il se liquéfie rapidement, ce qui explique les résultats de l'analyse.

Analyse : $C_{13}H_{22}Cl_2N_2$, Calc. % : C 56,31 H 7,94 N 10,10
Tr. 55,24 8,17 9,43

(cf pour le chlorhydrate de l'α-pipéridylcyanure de benzyle)

Analyse : $C_{13}H_{17}N_2Cl$, Calc. % : C 65,96 H 7,17 N 11,84

Nous chromatographions parallèlement le dichlorhydrate de la diamine et le chlorhydrate du nitrile dans différents solvants dont le mélange butanol-acide acétique-eau (80-20-100). Nous avons une bonne séparation. Le nitrile est écrasé sur le front du liquide et la diamine a un Rf de 0,25 (nous révélons avec le réactif de Draggendorff) (22).

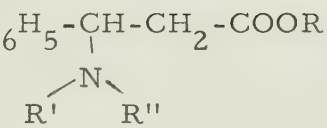
DEUXIEME PARTIE.

ETUDE PHARMACOLOGIQUE DES PRODUITS.
RAPPORTS STRUCTURE/ACTIVITE.

PREMIER CHAPITRE.

IDEES DIRECTRICES POUR LA SYNTHESE DE CERTAINS DERIVES.

I - SERIE DES ESTERS AMINES



Comme nous l'avons montré, nous attendons de ces molécules une action spasmolytique. En outre, nous avons fait varier certaines fonctions dans un but précis.

1 - La fonction ester

Nous avons augmenté la longeur de la chaîne carbonée de la fonction ester de C_1 à C_6 en pensant que l'activité physiologique augmenterait avec la liposolubilité. En effet, SCHMUTZ (49) signale, dans le cas de l'action des esters chromone-2 carboxyliques sur la dilatation des coronaires, que l'action est optimum pour l'ester butylique.

Nous avons aussi estérifié la fonction acide par le diéthylaminoéthanol qui se trouve dans de très nombreux spasmolytiques et anesthésiques locaux, où il semble avoir une action prépondérante (novosparol, néokhelline, novocaïne, trasentine, parpanite, asalgine).

Avec les radicaux alcoxyéthanolyle qui, dans la série homologue inférieure de NAJER, CHABRIER et GIUDICELLI (18) sont antitussifs.

Avec le trichlorobutanol qui, grâce aux trois chlore, peut apporter une action neurotrope.

Avec l'alcool propargylique dont la fonction acétylénique vraie se retro dans l'oblivon :

$$HC\equiv C\text{-}C(CH_3)(OH)\text{-}CH_2\text{-}CH_3$$

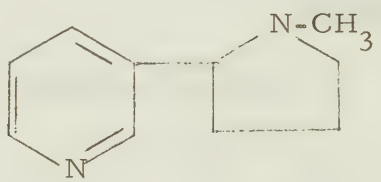
2- La Base $N(R', R'')$

Nous sommes passés de la pipéridine à la morpholine qui semble moins toxique pour l'organisme. La série de la N-benzylmorpholine a fourni des composé possédant un pouvoir anesthésique comparable à celui de la novocaïne mais beaucou moins toxiques que cette dernière :

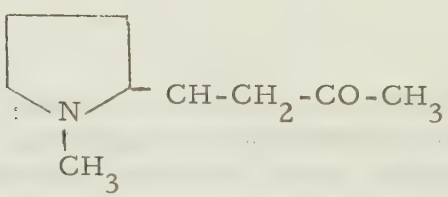
$$NH_2\text{-}C_6H_4\text{-}CO\text{-}O\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}N(C_2H_5)_2,\ HCl$$

novocaïne

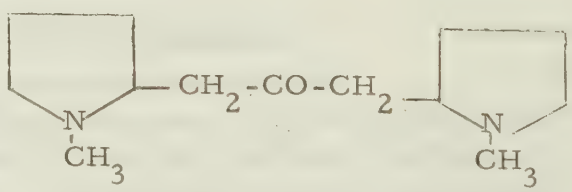
Nous avons utilisé aussi la pyrrolidine qui existe dans les molécules naturelles. Dans la nicotine :



On rencontre l'acide pyrrolidine α-carboxylique (L-proline) dans l'hydr lyse de la plupart des protéines (caséine, gélatine). Beaucoup d'alcaloïdes dérivent de la pyrrolidine (l'hygrine, l'hygroline, lacuskhygrine des feuilles de coca, etc...



hygrine



cuskhygrine

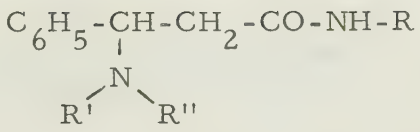
3 - Le noyau phényle

Nous y avons fixé deux méthoxy en 3, 4 par analogie avec les deux méthoxy des noyaux phényle de la papavérine.

Un méthoxy parce que dans la série homologue inférieure, les produits monoalcoxylés sur le noyau phényle ont une action intéressante.

Nous avons remplacé le phényle par son isostère furyle parce que ce noyau plus labile est moins toxique dans l'organisme.

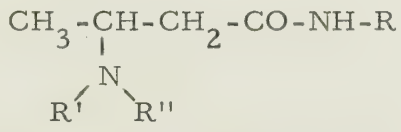
II - SERIE DES AMIDES



Dans cette série où nous attendons des corps anesthésiques locaux, nous avons fait varier :

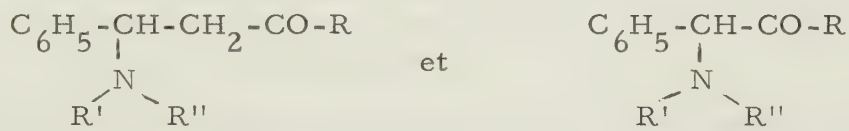
1) N(R', R'') comme pour les esters.

2) R en nous inspirant de WILDER et SMITH qui, en partant des crotonates ont obtenu des anesthésiques locaux puissants en synthétisant l'anilide (50) et les dérivés de l'acide paraminobenzoïque (47) :

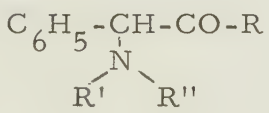


et comme d'autre part, le paraminobenzoate de butyle est lui-même un anesthésique local, nous avons préparé les amides avec NHR = aniline, aminobenzoate d'éthyle et de butyle, puis comme NAJER, CHABRIER dans la série homologue inférieure (19) avec R = n-butyle.

III - SERIE DES CETONES



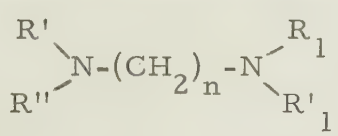
Les essais physiologiques montrant la labilité de la fonction ester, nous avons voulu essayer la stabilité de la fonction cétone dont certains représentants de la série :



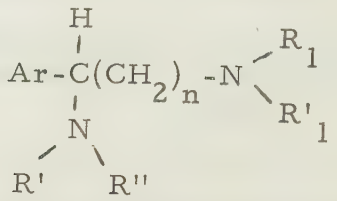
sont antispasmodiques.

IV - SERIE DES DIAMINES

La plupart des antihistaminiques sont des diamines de formule générale



Les dérivés que nous avons préparés s'apparentent à cet enchaînemen



DEUXIEME CHAPITRE

DOSAGES BIOLOGIQUES

Le dosage biologique d'un médicament est la détermination de son activité sur un organisme vivant ou sur une partie de cet organisme maintenue en survie.

Les dosages biologiques sont en général très sensibles : une solution d'histamine à 10^{-9} (10 µg par litre) provoque déjà la contraction de l'iléon de cobaye. Ils ont une spécificité très grande : l'iléon de cobaye se contracte sous l'influence de l'histamine, de l'acétylcholine ou de la sérotonine , mais l'emploi des antagonistes permet de différencier facilement chacune de ces substances. Toutefois, si ces dosages sont plus sensibles et plus spécifiques que les dosages chimiques, ils sont en général moins précis.

L'activité physiologique d'une substance ne peut pas être déterminée en valeur absolue mais toujours par comparaison avec un étalon. On doit se placer dans des conditions rigoureusement définies car l'espèce et la race de l'animal, la température ambiante, les variations saisonnières, diverses circonstances physiologiques comme la gravidité influencent la réponse. Toutes les fois qu'on le peut, on s'adresse aux organes isolés qui permettent une comparaison directe sur le même organe de la substance à doser et de la substance étalon.

Mesure de l'activité

Pour mesurer l'activité spasmolytique d'une substance, le procédé le plus courant consiste à enregistrer par la méthode de Magnus, les mouvements pendulaires d'un fragment d'intestin isolé (lapin, cobaye, rat) en survie dans du Tyrode aéré à 38°.

L'action spasmolytique est déterminée qualitativement et quantitativement en mesurant :

a) l'action du produit sur la fibre lisse telle quelle ;

b) sur la fibre préalablement contractée par le chlorure de baryum à (6.10^{-5}). L'antagonisme vis à vis du chlorure de baryum détermine l'action spasmolytique musculotrope. Dans ce cas, la papavérine sert de substance étalon.

c) sur la fibre contractée par l'acétylcholine à (6.10^{-8}). L'antagonisme vis à vis de l'acétylcholine détermine l'action spasmolytique neurotrope. L'atropine sert de substance étalon.

On peut déterminer soit la dose minimum nécessaire au relachement de 50 % du spasme provoqué par la contracture (action curative), soit la dose minimum prévenant le spasme intestinal provoqué par une dose appropriée du contracturant (action préventive). C'est cette deuxième mesure qui a été utilisée.

Quand nous dirons qu'un corps est actif à 1.10^{-6}, il s'agit de la dose minimum active ou de la concentration seuil.

Pour les antihistaminiques, le processus est identique ; Recherche de la concentration seuil inhibant la contraction histaminique de l'iléon de cobaye, avec le phénergan comme étalon.

Pour mesurer l'activité anesthésique locale, on emploie la technique de Régnier, basée sur le déclanchement du réflexe oculopalpébral par attouchements rythmiques de la cornée du lapin : comptage des attouchements ; étalon : cocaïne à 2 %.

Mesure de la toxicité

Toxicité aigüe

On administre à des lots homogènes de 10 à 20 souris (par sonde gastrique, par voie sous cutanée, par voie intraveineuse ou par la bouche) des doses variées des produits à l'étude. Les animaux sont replacés dans des conditions définies (alimentation, température, etc ...) et mis en observation pendant une semaine. Les animaux morts sont comptabilisés au bout de cette période. Les résultats sont donnés en % de mortalité.

Les résultats sont portés sur un graphique pour tracer la courbe : log. doses par rapport aux mortalités en unités de probabilité. La DLA 50 (ou dose léthale aigüe 50 %) est obtenue par interpolation graphique.

Intoxication subaiguë (toxicité chronique).

Les animaux absorbent une quantité journalière de produit pendant une durée déterminée. En fin d'expérience, ils sont sacrifiés et autopsiés. On étudie leur comportement, les courbes pondérales et les courbes de croissance pendant la durée du traitement ; puis leur anatomie pathologique (foie, rate, reins, surrénales) par autopsie.

A activité égale, un corps a plus d'intérêt si sa toxicité est inférieure et à toxicité égale, si sa dose minimum active est plus faible.

Nos résultats sont consignés dans les tableaux 8, 9, 10, 11, 12, 13.

Pour tous ces tableaux d'activités biologiques :

la fibre lisse est contracturée par le chlorure de baryum à 6.10^{-5}
par l'acétylcholine à 6.10^{-8}.

Le chiffre donné correspond à une concentration limite.

Le chiffre entre parenthèses pour le chlorure de baryum correspond à la papavérine et pour l'acétylcholine à l'atropine ; pour les anesthésiques locaux à la cocaïne à 2 % ; pour les antihistaminiques au phénergan.

1.10^{-6} correspond à 1 milligramme par litre.

Tableau 8

X-CH-CH_2-COO-R , HCl

R	X	Activité spasmolytique intestin seul	anti. $BaCl_2$	anti. acétylcholine
CH_3		1.10^{-6} (1.10^{-6})	2.10^{-6} (2.10^{-6})	2.10^{-5} (2.10^{-8})
C_2H_5	"	4.10^{-5} (2.10^{-6})	2.10^{-5} (2.10^{-5})	1.10^{-5} (2.10^{-7})
C_3H_{7n}	"	2.10^{-4} (2.10^{-6})	2.10^{-5} (2.10^{-6})	
C_3H_{7iso}	"	1.10^{-4} (2.10^{-6})	2.10^{-5} (2.10^{-6})	
$C_4H_9{}^n$	"	2.10^{-6} (2.10^{-6})	$0,5.10^{-6}$ (1.10^{-6})	1.10^{-6} (2.10^{-8})
C_4H_{9iso}	"	1.10^{-5} (2.10^{-6})	1.10^{-5} (2.10^{-6})	
C_4H_9 sec.	"	5.10^{-5} (4.10^{-6})	2.10^{-5} (3.10^{-6})	$8,7.10^{-6}$ ($1,2.10^{-8}$)
CH_2-C≡CH	"	1.10^{-4} (5.10^{-6})	6.10^{-5} (2.10^{-6})	1.10^{-4} (2.10^{-8})

Tableau 8 (suite)

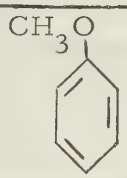
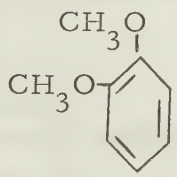
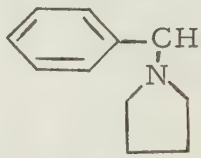
$CH_2-CH_2-N(C_2H_5)(C_2H_5)$		5.10^{-6} (5.10^{-6})	5.10^{-6} (2.10^{-6})	1.10^{-5} (1.10^{-8})
C_6H_{11} Cyclohexyle	"	1.10^{-5} (5.10^{-6})	2.10^{-6} (2.10^{-6})	2.10^{-6} (1.10^{-8})
$C_4H_6Cl_3$ Trichlorobutanol	"	1.10^{-5} (5.10^{-6})	2.10^{-6} (2.10^{-6})	2.10^{-5} (6.10^{-8})
CH_2 CH_2 OC_2H_5	"	2.10^{-5} (5.10^{-6})	2.10^{-5} (2.10^{-6})	2.10^{-5} (2.10^{-8})
CH_2 CH_2 OC_4H_9 n	"	5.10^{-6} (5.10^{-6})	2.10^{-6} (2.10^{-6})	1.10^{-6} (1.10^{-8})
CH_2 CH_2 OC_4H_9 iso	"	1.10^{-5} (2.10^{-6})	5.10^{-6} (2.10^{-6})	5.10^{-6} (2.10^{-8})
C_4H_9 n		1.10^{-5} (2.10^{-6})	4.10^{-6} (2.10^{-6})	
C_4H_9 n		5.10^{-6} (2.10^{-6})	1.10^{-5} (4.10^{-6})	
C_4H_9 n		1.10^{-5} (2.10^{-6})	4.10^{-6} (2.10^{-6})	

Tableau 9



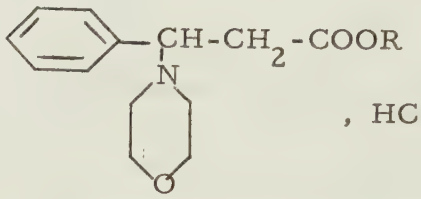
, HCl

R	Activité spasmolytique		
	Intestin seul	Anti. $BaCl_2$	Antiacétyl-choline
CH_3	4.10^{-5} (5.10^{-6})	1.10^{-5} (2.10^{-6})	1.10^{-5} (1.10^{-8})
C_2H_5	excitant à 1.10^{-5} décontractant à 2.10^{-5} (5.10^{-6})	2.10^{-5} (2.10^{-6})	demi-décontraction à : 1.10^{-5} pas totale à 1.10^{-4} (1.10^{-8})
C_3H_7 n	2.10^{-5} ($5,10^{-6}$)°	1.10^{-5} (2.10^{-6})	2.10^{-5} (1.10^{-8})
C_4H_9 n	5.10^{-6} (2.10^{-6})	4.10^{-6} (2.10^{-6})	2.10^{-6} (1.10^{-8})
C_4H_9 sec.	6.10^{-6} (7.10^{-6})	4.10^{-6} ($4,5.10^{-6}$)	$3,5.10^{-6}$ (3.10^{-8})
C_4H_9 iso	5.10^{-6} (5.10^{-6})	2.10^{-6} (2.10^{-6})	1.10^{-7} (2.10^{-8})
$CH_2-CH_2-N(C_2H_5)(C_2H_5)$	2.10^{-5} (5.10^{-6})	1.10^{-5} (2.10^{-6})	1.10^{-5} (1.10^{-8})

Tableau 9 (suite)

CH_2 CH_2 OC_2H_5	1.10^{-5} (2.10^{-6})	1.10^{-6} (2.10^{-6})	1.10^{-5} $(2.10^{-8}$
CH_2 CH_2 OC_4H_9 n	4.10^{-5} (5.10^{-6})	4.10^{-5} (5.10^{-6})	4.10^{-5} (2.10^{-8})
CH_2 CH_2 OC_4H_9 iso	1.10^{-4} (6.10^{-6})	2.10^{-5} (2.10^{-6})	1.10^{-5} (1.10^{-8})

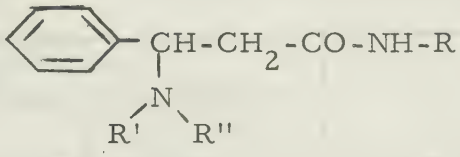
Tableau 10



, HCl

R	Activite spasmolytique		
	Intestin seul	anti $BaCl_2$	Antiacétylcholine
C_4H_9 n	1.10^{-5} (2.10^{-6})	1.10^{-5} (2.10^{-6})	1.10^{-5} (1.10^{-8})
C_4H_9 sec.	$1,4.10^{-4}$ ($5,2.10^{-6}$)	$2,6.10^{-5}$ (6.10^{-6})	$3,5.10^{-5}$ (3.10^{-7})

Tableau 11



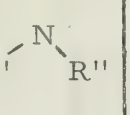
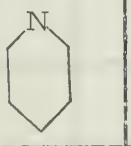
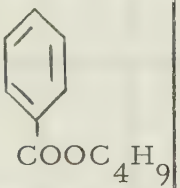
	R	Activité spasmolytique			Activité
		intestin seul	anti $BaCl_2$	antiacétylcholine	Anesthésique local
	H	rien jusqu'à 1.10^{-4}	rien jusqu'à 1.10^{-4}	rien jusqu'à 1.10^{-4}	
"	C_4H_9	1.10^{-4} (5.10^{-5})	1.10^{-5} (5.10^{-5})	1.10^{-5} (1.10^{-8})	
"	C_6H_5	légèrement contracturant (5.10^{-6})	inactif (5.10^{-6})	inactif (1.10^{-8})	
"		1.10^{-5} (5.10^{-6})	inactif à 1.10^{-4} (5.10^{-6})	inactif à 1.10^{-4} (2.10^{-8})	oeil droit 14 (308) oeil gauche 14 (307)
	"	1.10^{-5} (2.10^{-6})	1.10^{-4} (5.10^{-6})	1.10^{-4} (4.10^{-8})	25 (308) 15 (307)
	"	inactif (5.10^{-6})	1.10^{-4} (5.10^{-6})	1.10^{-4} (1.10^{-8})	14 (308) 14 (307)

Tableau 12

CETONES

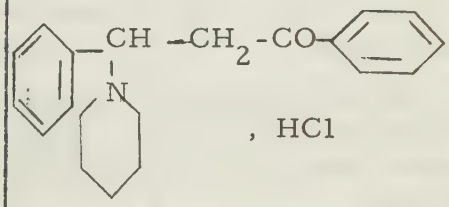
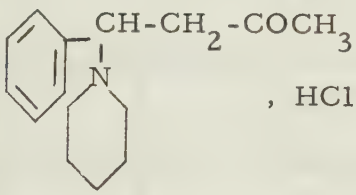
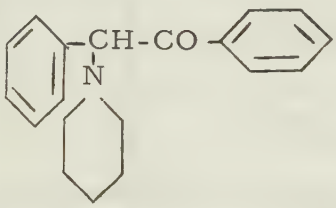
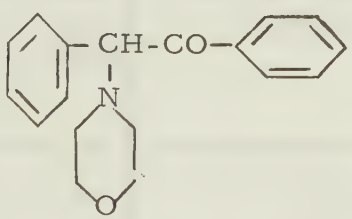
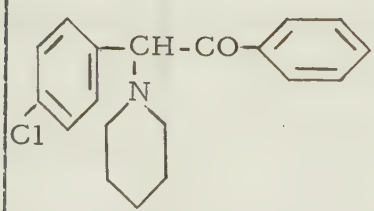
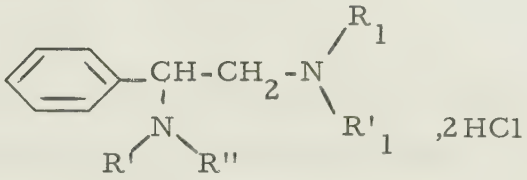
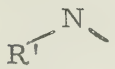
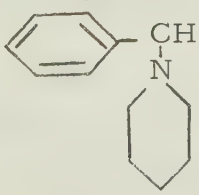
Fomules	Activité spsamolytique			Activité
	intestin seul	anti. $BaCl_2$	antiacétyl-choline	antihista-minique
 , HCl	1.10^{-4} (2.10^{-6})	1.10^{-5} (2.10^{-6})		
 , HCl	produit aux essais			
	atteinte du s. n. central 4.10^{-6} (4.10^{-6})	4.10^{-6} à 1.10^{-5} (1.10^{-5})	DLA 50 = 0,320 g/kg	2.10^{-5} (2 à 4.10
	4.10^{-5} (2 à 4.10^{-6})	4.10^{-5} (2.10^{-6})		
	1.10^{-4} (2.10^{-6})	2.10^{-4} (2.10^{-6})		

Tableau 13



		Activité spasmolytique intestin seul	anti. $BaCl_2$	antiacétylcholine	Activité antihistaminique
		contracturant à partir de 2.10^{-6} (2.10^{-6})			jusqu'à 2.10^{-4} rien ; de 2 à 4.10^{-4} légèrement contracturant $>4.10^{-4}$, bloque la contraction histaminique (1.10^{-7})
		pas contracturant légèrement spasmolytique à 1.10^{-4}			
	NH_2	contracturant à partir de 2.10^{-5}, paralyse les mouvements péristaltiques à partir de 2.10^{-4}. Cette action inhibe le spasme produit en temps normal par $BaCl_2$ ou l'acétylcholine.			
		4.10^{-5} (5.10^{-6})	4.10^{-5} (5.10^{-6})	2.10^{-5} (2.10^{-8})	

TROISIEME CHAPITRE

RELATION ENTRE L'ACTIVITE DE NOS PRODUITS ET CERTAINES PROPRIETES PHYSIQUES

BILAN ET DISCUSSION DES RESULTATS

I - LES ESTERS AMINO-3 PHENYL-3 PROPIONIQUES

a) Bilan (tableaux 8, 9, 10)

Comme nous nous y attendions, ils ont une activité spasmolytique intéressante, en général à dominante musculotrope.

Dans la série pipéridylée (tableau 8), on constate que l'activité maximum est celle de l'ester n-butylique dont l'activité spasmolytique musculotrope est le double de celle de la papavérine. Les esters méthylique, éthylique, trichlorobutylique, cyclohexylique, n-butoxyéthylique ont une activité égale à celle de la papavérine. Le radical diéthylaminoéthyle n'apporte pas l'amélioration espérée.

Dans la série pyrrolidylée (tableau 9), on constate que l'activité maximum est celle de l'ester isobutylique dont l'activité spasmolytique musculotrope, égale à celle de la papavérine, est accompagnée d'une activité spasmolytique neurotrope égale à 1/10 de celle de l'atropine. L'éster butylique secondaire a une activité voisine de celle de la papavérine.

Dans ces deux séries, le maximum d'activité pour les dérivés butyliques semble lié à la liposolubilité.

Les dérivés pipéridinique et pyrrolidinique ont des activités comparables.

Dans la série morpholinylée (tableau 10), les produits sont très peu actifs.

Deux de ces esters se sont mis en vedette : les chlorhydrates de (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de n-butyle et de (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionate d'isobutyle. Ayant retenu notre attention, ils ont été l'objet d'études d'activités comparées plus poussées, nos résultats sont consignés dans le tableau 14.

Tableau 14

	Activités spasmolytiques			DLA 50
	Intestin seul	Anti $BaCl_2$	Antiacétylcholine	(per os)
Papavérine	2.10^{-6}	1.10^{-6}		0,680
Novosparol	2.10^{-5}	5.10^{-5}		1,0
Khelline	2.10^{-6}	2.10^{-6}		0,680
Atropine			1.10^{-8}	
Vagoprol				0,380
Sedormid				0,380
Produit Pipéridylé, n-butyl	2.10^{-6}	$0,5.10^{-6}$	1.10^{-6}	3,6
Produit pyrrolidylé, isobutyl	2.10^{-6}	1.10^{-6}	1.10^{-7}	3,8

Le chlorhydrate de (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de n-butyle a une activité musculotrope deux fois plus grande que la papavérine ou la khelline. Il a une toxicité extrêmement faible : 5 fois plus faible que la papavérine et 10 fois plus faible que des produits comme vagoprol ou sedormid.

Toxicité chronique : Si on fait absorber :

100 mg de produit par jour, per os, à un rat pendant 21 jours, la courbe pondérale est normale et l'examen histopathologique ne révèle aucune lésion.

Les essais cliniques ont donné de très bons résultats. Les rapports médicaux font état de résultats positifs dans un certain nombre de cas et le produit a obtenu son visa comme médicament.

Le chlorhydrate de (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionate d'isobutyle a une activité musculotrope identique à celle de la papavérine, jointe à une activité neurotrope dix fois plus faible que l'atropine. La DLA 50 de 3,8 g/kg est extrêmement intéressante. L'intoxication subaiguë est inapparente histologiquement.

Les essais cliniques poursuivis actuellement dans les services hospitaliers sont très intéressants.

b) Relation entre l'activité et certaines propriétés physiques

I - Etude de la solubilité

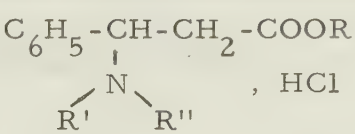
Le Rf d'un produit est fonction de sa solubilité dans la phase mobile du solvant employé.

Pour essayer de mettre en évidence un rapport entre l'activité pharmacologique et la solubilité des produits, les esters propioniques sont chromatographiés en parallèle afin de comparer leur Rf.

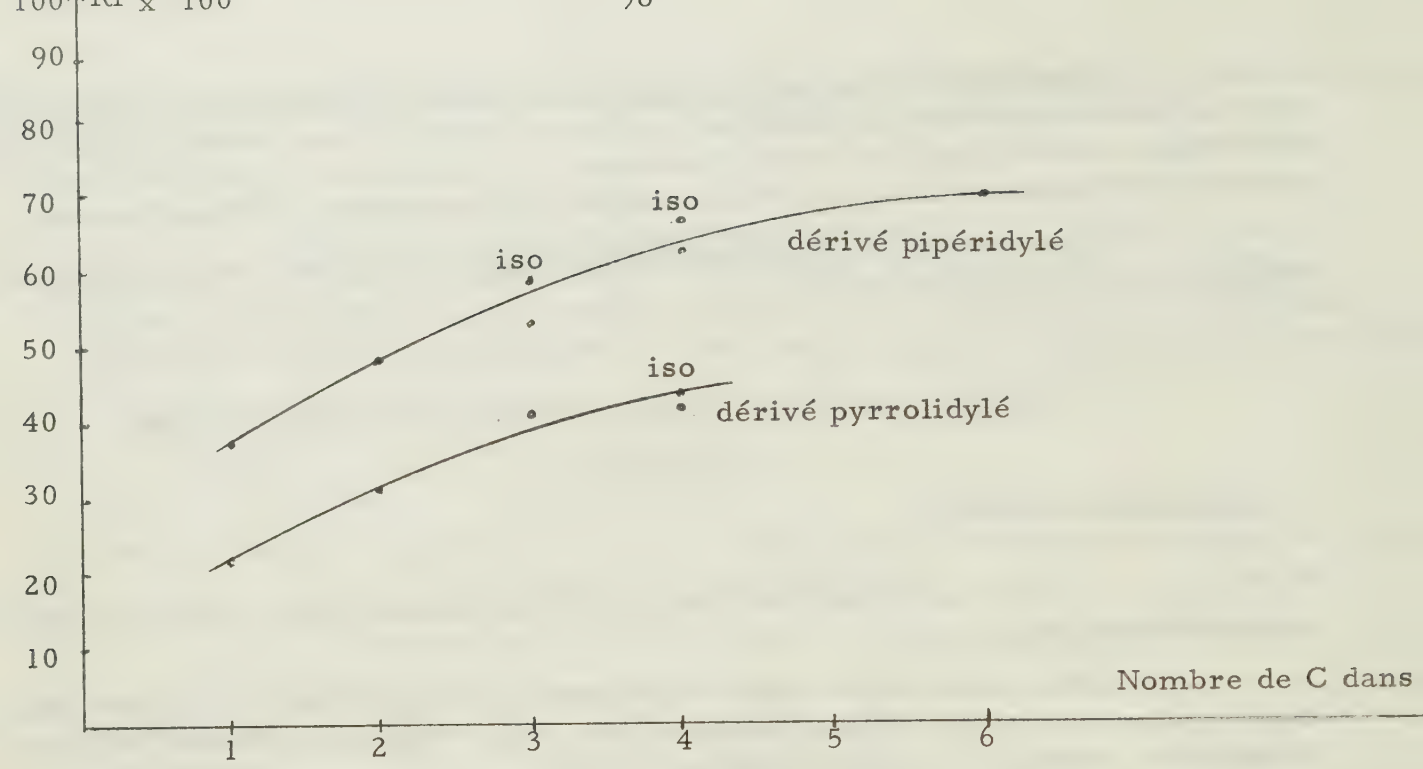
Pour obtenir une bonne séparation, la chromatographie est faite sur papier imprégné de PO_4H_2K à 2,5 % (30). (Cette technique sera développée plus loin) dans de l'alcool amylique tertiaire à 90 %. En déposant 80 µg de chaque chlorhydrate, on obtient de jolies taches rose orangé révélées au réactif de Draggendorff (22).

Les différents Rf sont réunis dans le tableau 15. Le Rf croît avec le nombre de chaînons carbonés de l'alcool estérifiant.

Tableau 15



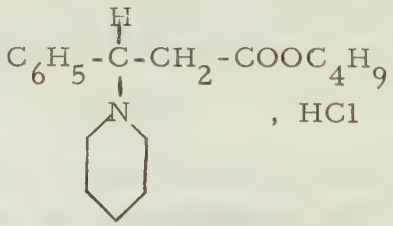
R	N(R', R'') = pipéridine	N(R', R'') = pyrrolidine
	Rf	Rf
Méthyl	0,37	0,22
Ethyl	0,48	0,31
Propyl	0,53	0,41
Isopropyl	0,58	-
Butyl	0,62	0 42
Isobutyl	0,66	0,44
Cyclohexyl	0,69	-



Malgré la ressemblance des maximum d'activité et de Rf, nous n'avons pas pu établir une relation mathématique entre l'activité et la liposolubilité Il faut d'ailleurs noter que la solubilité, in vitro, dans le cas très particulier d'un solvant précis, comme nous l'avons étudiée, est différente de la pénétration dans l'organisme qui fait intervenir la solubilité dans les graisses et dans les tissus.

2 - Examen des antipodes optiques

Ces produits ont un carbone asymétrique,par exemple :



par synthèse, nous avons préparé le racémique. Nous nous sommes demandés si, comme dans le cas de l'adrénaline où la L-adrénaline est 20 fois plus active que la D, un des antipodes optiques aurait une activité supérieure à l'autre. Nous avons essayé de les séparer. Pour cela, à partir du camphosulfonate, nous avons fait des cristallisations lentes et fractionnées. Le camphosulfonate du racémique fond à 122°. Nous avons obtenu un premier jet de cristallisation qui fond à 128° mais les mesures du pouvoir rotatoire soit du camphosulfonate, soit de la base libre ne donnent aucune différence appréciable.

3) Nous nous proposons par la suite d'étudier les valeurs comparées des pK de ces esters aminés et d'examiner si les activités physiologiques constatée ont un rapport avec elles.

II - AMINO-3 PHENYL-3 PROPIONAMIDES (Tableau 11)

L'action anesthésique locale attendue est inexistante et l'action spasmolytique est assez faible. Sauf pour la N(n-butyl)(pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionamide qui a une action spasmolytique musculotrope cinq fois plus grande que la papavérine, jointe à une action neurotrope qui est plus de la moitié de celle de l'atropine.

III - LES CETONES (Tableau 12)

La pipéridylphénacétophénone a une très bonne activité spasmolytique (supérieure à la papavérine), mais sa toxicité est trop importante (le double de celle de la papavérine) pour que le produit ait un intérêt clinique.

IV - LES DIAMINES (Tableau 13)

Les diamines n'ont pas l'action antihistaminique que nous attendions. Il est possible que la distance entre les deux azotes soit insuffisante (pour le phénergan, on note trois carbones au lieu de deux dans nos produits).

On observe un phénomène curieux d'inversion de l'activité ; suivant sa concentration, le produit est spasmolytique ou contracturant.

TROISIEME PARTIE.

INTRODUCTION

L'intérêt pharmacologique et clinique du chlorhydrate de (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de n-butyle nous a incité à étudier par chromatographie la détection de petites quantités du produit de façon à suivre son évolution dans l'organisme. Nous avons mis au point, en utilisant la pesée du papier correspondant à la surface des taches obtenues, une méthode de dosage qui a trouvé un certain nombre d'applications :

- l'étude de la cinétique de la synthèse du produit et l'étude de sa dégradation ;
- l'étude de son métabolisme par le foie de rat et la mise en évidence de son action antiacétylcholine ;
- son dosage dans les formes pharmaceutiques.

PREMIER CHAPITRE

CHROMATOGRAPHIE DU CHLORHYDRATE DE (PIPERIDYL-1)-3 PHENYL-3 PROPIONATE DE n-BUTYLE

Nous avons étudié les meilleures conditions pour le chromatographier.

Différents solvants ont été essayés pour connaître les Rf et déterminer les taches les mieux délimitées. Les taches sont révélées avec le réactif iodo-bismuthique de Draggendorff (22), déjà utilisé pour la révélation des alcaloïdes et de certaines bases azotées. Dans le cas des esters aminés, les taches sont orangé rose, très sensibles ; les plus nettes se situent entre 60 et 80 µg de substance. Le fond du papier se colore en orangé pâle.

Réactif de Draggendorff

Introduire dans l'ordre indiqué :

1 - sous nitrate de bismuth	:	2,5 g
2 - eau	:	20 ml
3 - acide acétique cristallisable	:	5 ml
4 - iodure de potassium (préalablement dissous dans 10 ml d'eau)	:	4 g

On mélange, il apparaît un précipité orangé surmonté d'une liqueur orangée aussi. On filtre, et conserve le filtrat dans un flacon noir.

Cette solution mère est diluée au moment de l'emploi :

Solution mère	:	5 volumes
Acide acétique	:	10 volumes
Eau q. s. pour	:	100 volumes

Rf dans différents solvants

Solvants	Rf
Butanol-eau-acide acétique 80-20-100	0,90
Acide acétique à 15 %	0,84
Acide acétique à 30 %	0,90
Acide acétique à 60 %	0,96
Propanol à 30 %	0,96
Propanol à 70 %	0,98
Eau	0,85
Eau-chlorure de sodium 5 %	0,84

Le meilleur solvant est l'acide acétique à 15 % dans lequel la progression est assez rapide et les taches très nettes.

Dosage par chromatographie

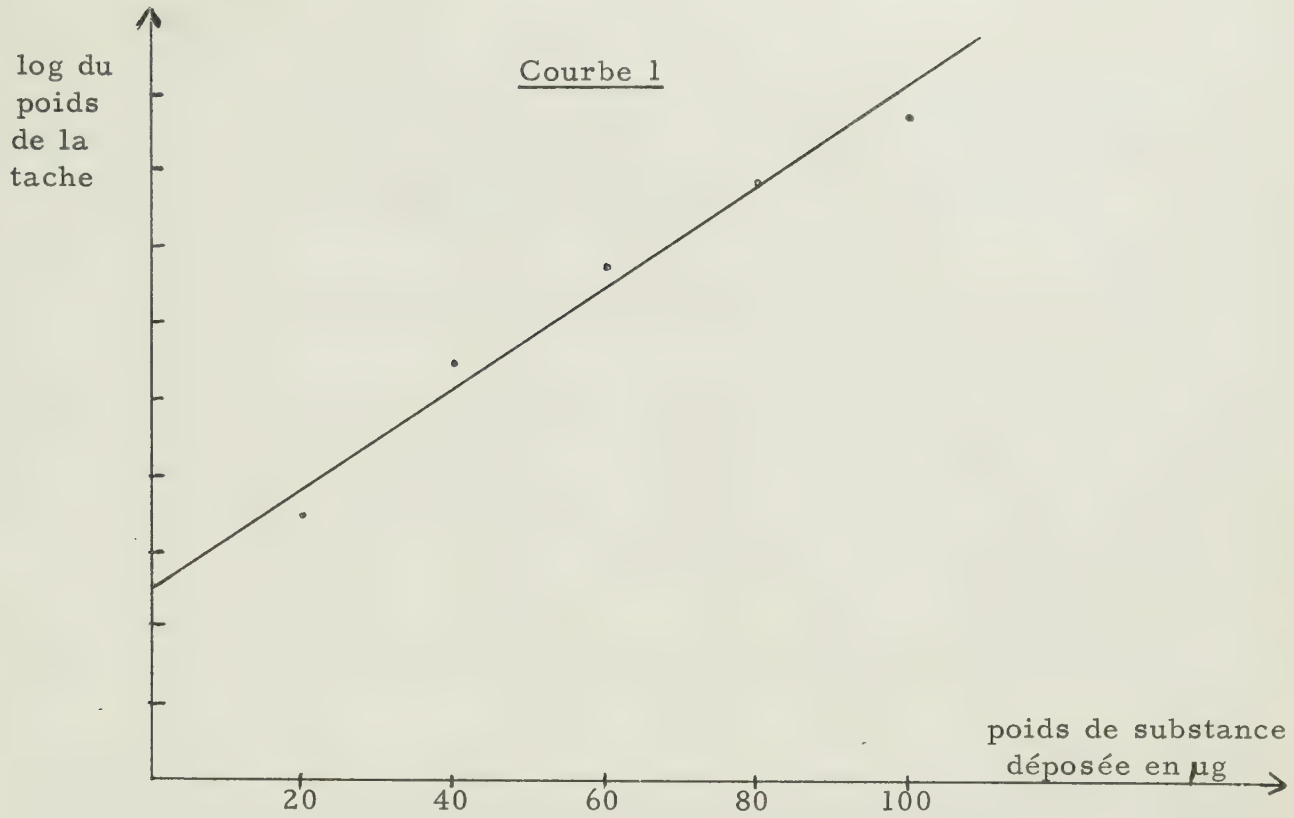
20 mg de produit sont dissous dans 1 ml d'alcool absolu. Sur une feuille de papier Whatman N° 1, 1, 2, 3, 4, 5 µl de cette solution correspondant respectivement à 20, 40, 60, 80, 100 µg de substance sont déposés à la micropipette. On chromatographie à une température de 20-22° dans une grande cuve Shandon à chromatographie descendante, dans de l'acide acétique à 15 %. La feuille est séchée, révélée au réactif de Draggendorff et séchée de nouveau. Les taches sont délimitées facilement car elles ne présentent pas d'auréole. Elles sont découpées et pesées.

On établit alors la courbe étalon :

logarithme du poids du papier en fonction du poids de substance déposée : log. p = f(c).

Entre 20 et 80 µg, c'est une droite, au-delà, les taches sont plus concentrées et le résultat est moins bon. Ces conditions de concentration seront donc toujours, respectées.

Poids de substance déposée	20 µg	40 µg	60 µg	80 µg	100 µg
Poids de la tache	0,0225 g	0,0359 g	0,0486 g	0,0630 g	0,0752
log.	$\bar{2}$,3522	$\bar{2}$,5551	$\bar{2}$,6866	$\bar{2}$,7933	$\bar{2}$,8762



Pour être dans les meilleures conditions et éliminer une partie des erreurs (dues à la température ambiante, à l'hygrométrie de l'air, à une légère variation du solvant), une courbe étalon est tracée à chaque dosage. Pour cela, les quantités à doser sont chromatographiées sur la même feuille que des quantités connues de produit. Ces quantités connues permettent de construire une courbe étalon, d'après laquelle, connaissant le poids des taches, il sera possible de déduire la quantité du produit à doser.

Approximation du dosage

- Une erreur de pesée de 1/10 mg sur 200 mg donne une erreur relative de 1/2000 ;
- l'erreur relative de dilution à 1 ml est de 1/100 ;
- l'erreur relative sur le volume déposé (2 µl) est de 1/40 ;
- l'erreur relative sur le découpage des taches (découpage et variation du papier) est de 2/100 (erreur chiffrée par un certain nombre de mesures).
- l'erreur relative sur la pesée des taches est de 1/500.

Cette somme d'erreurs relatives :

$$\frac{1}{200} + \frac{1}{100} + \frac{1}{40} + \frac{2}{100} + \frac{1}{500} = \frac{1 + 20 + 50 + 40 + 4}{2000} = \frac{115}{2000}$$

donne théoriquement une erreur d'environ 5 %, approximation que nous avons obtenue dans la pratique.

DEUXIEME CHAPITRE

APPLICATION DU DOSAGE.

I - ETUDE DE LA CINETIQUE DE LA REACTION D'ADDITION NUCLEOPHILE

$$C_6H_5\text{-}CH{=}CH\text{-}COO\text{-}C_4H_9 + (C_5H_{10})NH \longrightarrow C_6H_5\text{-}\underset{\underset{N(C_5H_{10})}{|}}{CH}\text{-}CH_2\text{-}COO\text{-}C_4H_9$$

But -

Etudier l'évolution de la réaction en fonction des facteurs temps, température et concentration des réactifs.

Principe -

Il est possible, en chromatographiant une quantité constante de mélange réactionnel, prélevée à des intervalles de temps réguliers, de connaître la quantité d'ester aminé obtenue en fonction du temps et par suite de suivre l'évolution de la réaction.

Chaque fois on établit une nouvelle courbe étalon : logarithme du poids du papier en fonction des quantités connues de produit.

La chromatographie de ces quantités connues faite en même temps que celle de l'expérience, diminue les causes d'erreur.

Sur cette courbe, grâce aux logarithmes des poids du papier obtenus pour les taches de chaque prise, il est possible de lire la quantité de produit déposé et ainsi chaque fois de connaître le % de produit transformé.

Des courbes comparatives : produit transformé en fonction du temps sont établies et ceci à différentes températures : 20, 60, 80 et 100° et pour deux rapports de concentration des corps de départ : 1 mole d'ester, 3 moles de base et 1 mole d'ester, 1 mole de base

Partie expérimentale

Dans un bain-marie à 80°, 10 g de cinnamate de butyle sont chauffés avec 13 g de pipéridine (3 fois la quantité théorique). A des temps précis (voir tableaux), 1 ml de mélange est prélevé et conservé au réfrigérateur. Quand toute les prises sont réunies, une même quantité du mélange est chromatographiée. Cette quantité est évaluée pour que les taches d'ester aminé soient dans la bonne zone de grandeur pour l'expérience.

Par exemple ici : 41 mg du mélange sont pesés et étendus à 1 ml avec de l'alcool absolu. Puis 4 µl sont déposés, ce qui revient à déposer :

$$\frac{41.4}{1000} = \frac{164}{1000} \text{ mg} = 164 \text{ µg du mélange}$$

Les 23 g du mélange pour 100 % de rendement, donneraient 14 g d'ester aminé.

164 µg du mélange donneraient : $\frac{164,14}{23} = 100$ µg d'ester.

Le rendement étant entre 20 et 80 %, les taches correspondront à 20 et 80 µg qui sont les meilleurs ordres de grandeur.

Les taches révélées sont pesées. Avec le logarithme du poids des taches obtenues, on peut lire sur les courbes témoins la quantité de produit formé et calculer chaque fois le % de produit formé, permettant de tracer les courbes ci-après.

1mole/3 moles
20°

Temps des prélèvements	Poids des taches en g	log. du poids	% de produit formé
1/2 heure	0,0280	$\bar{2}$,4478	22
1 heure	0,0316	$\bar{2}$,4997	34
2 heures	0,0340	$\bar{2}$,5315	40
3 -	0,0362	$\bar{2}$,5587	45
4 -	0,0366	$\bar{2}$,5635	46
6 -	0,0388	$\bar{2}$,5888	52
8 -	0,0390	$\bar{2}$,5911	63
3 jours	0,0440	$\bar{2}$,6435	75

1 mole/3 moles
60°

1/4 heure	0,0270	$\bar{2}$,4314	20
1/2 heure	0,0310	$\bar{2}$,4914	31
1 heure	0,0345	$\bar{2}$,5378	40
1 heure 1/2	0,0380	$\bar{2}$,5798	50
2 heures	0,0420	$\bar{2}$,6233	62
3 heures	0,0445	$\bar{2}$,6484	65
4 heures	0,0460	$\bar{2}$,6628	70

1 mole/3 moles
80°

1/4 heure	0,0352	$\bar{2}$,5465	43
1/2 heure	0,0365	$\bar{2}$,5623	47
1 heure	0,0405	$\bar{2}$,6075	56
1 heure 1/2	0,0425	$\bar{2}$,6284	61
2 heures	0,0440	$\bar{2}$,6435	64
3 heures	0,0474	$\bar{2}$,6758	70
4 heures	0,0507	$\bar{2}$,7050	77

1 mole/3 moles
100°

Temps des Prélèvements	Poids des taches en g	log du poids	% de produit formé
5 minutes	0,0210	$\bar{2}$,3222	5
1/4 heure	0,0267	$\bar{2}$,4265	23
1/2 heure	0,0322	$\bar{2}$,5079	40
1 heure	0,0364	$\bar{2}$,5611	50
1 heure 1/2	0,0400	$\bar{2}$,6021	57
2 heures	0,0412	$\bar{2}$,6149	60
3 heures	0,452	$\bar{2}$,6571	67

1 mole/1 mole
60°

1/4 heure	0,008	$\bar{3}$,9031	
1/2 heure	0,017	$\bar{2}$,2304	
1 heure	0,023	$\bar{2}$,3711	10
1 heure 1/2	0,026	$\bar{2}$,4150	18
2 heures	0,030	$\bar{2}$,4771	30
3 heures	0,034	$\bar{2}$,5315	42
4 heures	0,037	$\bar{2}$,5682	48
6 heures	0,047	$\bar{2}$,6721	70

1 mole/1 mole
80°

1/4 heure	0,0100	$\bar{2}$,000	
1/2 heure	0,0180	$\bar{2}$,5553	
1 heure	0,0250	$\bar{2}$,3979	15
1 heure 1/2	0,0300	$\bar{2}$,4771	30
2 heures	0,0350	$\bar{2}$,5441	44
3 heures	0,0400	$\bar{2}$,6021	56
5 heures	0,0480	$\bar{2}$,6812	72

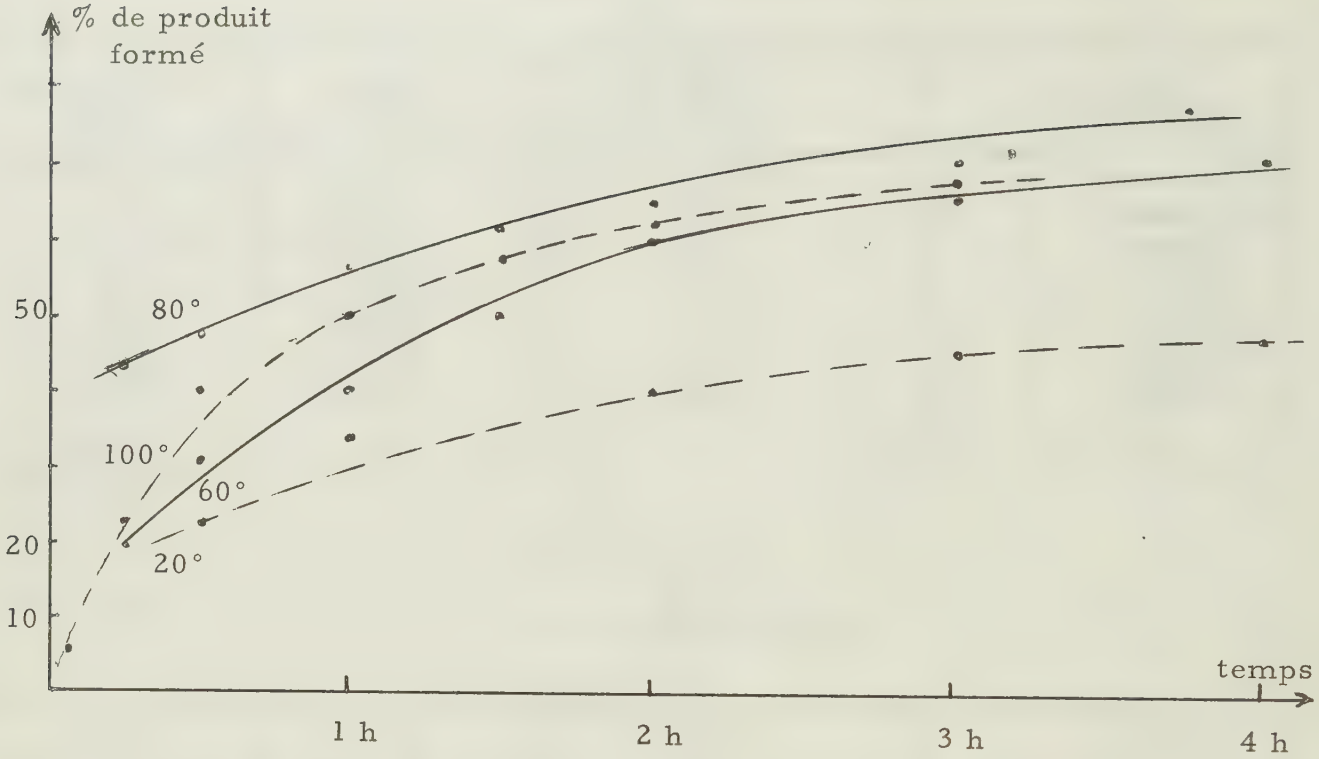
1 mole/1 mole
100°

Temps des prélèvements	Poids des taches en g	log du poids	% de produit formé
1/4 heure	0,009	$\bar{3}$,9542	
1/2 heure	0,020	$\bar{2}$,3010	
1 heure	0,030	$\bar{2}$,4771	30
1 heure 1/2	0,035	$\bar{2}$,5441	44
2 heures	0,040	$\bar{2}$,6021	56
3 heures	0,045	$\bar{2}$,6532	66

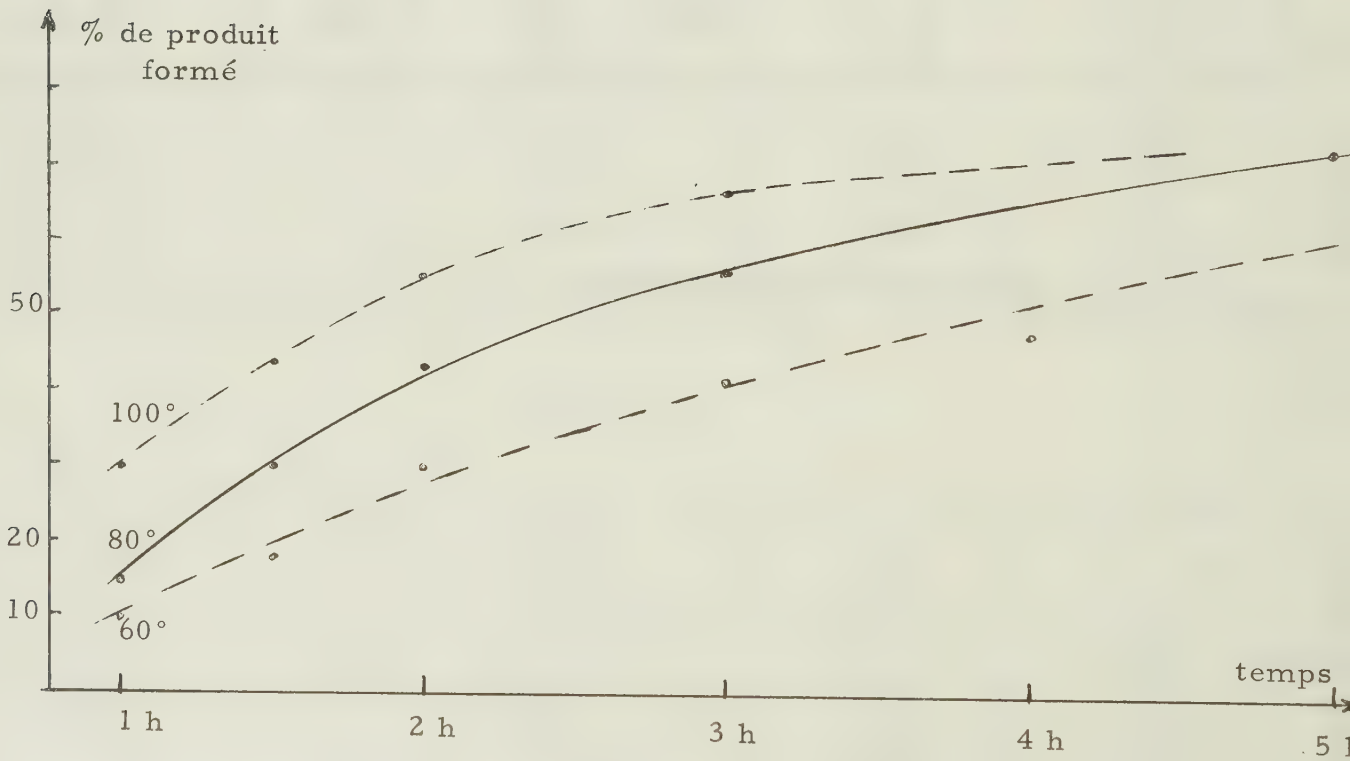
1 mole/ 3 moles
20°
après 10 jours à - 5°

1/4 heure	0,0396	$\bar{2}$,5977	54
1 heure	0,0445	$\bar{2}$,6484	64
2 heures	0,0454	$\bar{2}$,6571	65
3 heures	0,0460	$\bar{2}$,6628	68
4 heures	0,0492	$\bar{2}$,6920	74

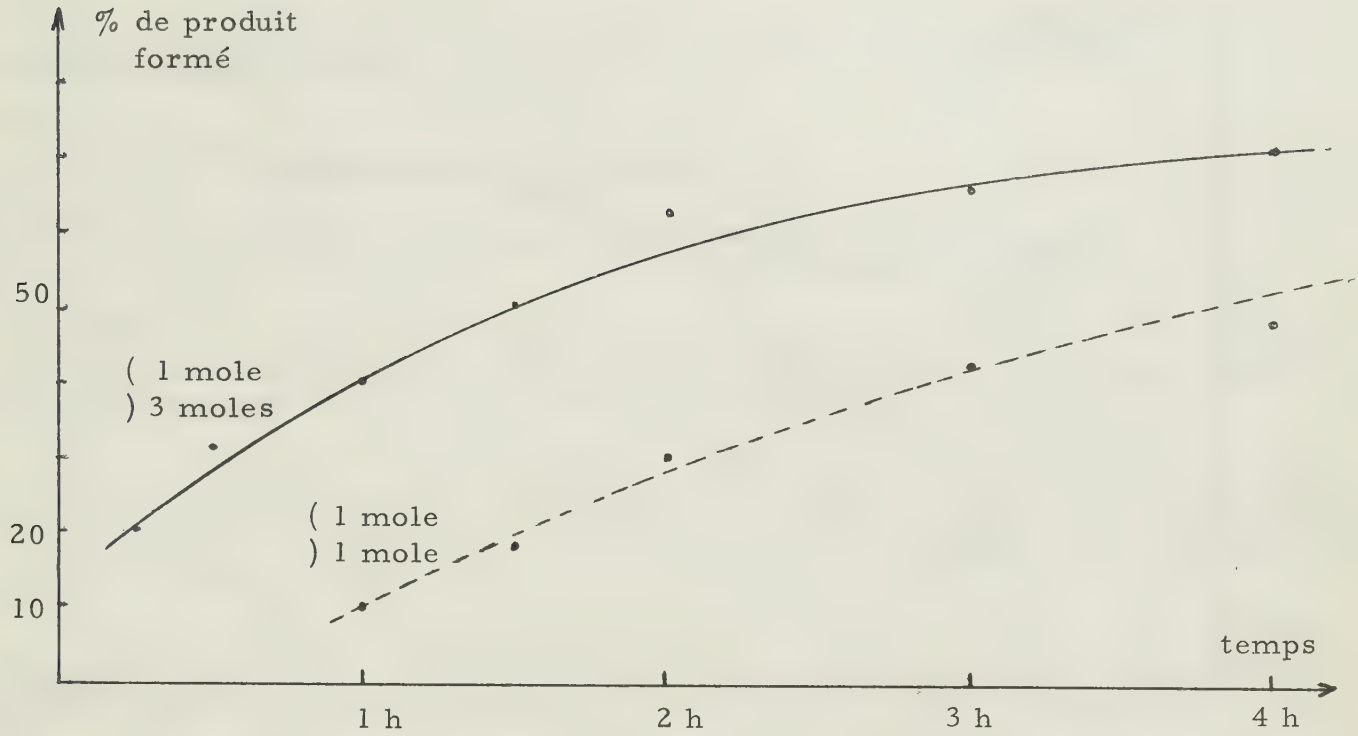
Voir courbes pages suivantes.



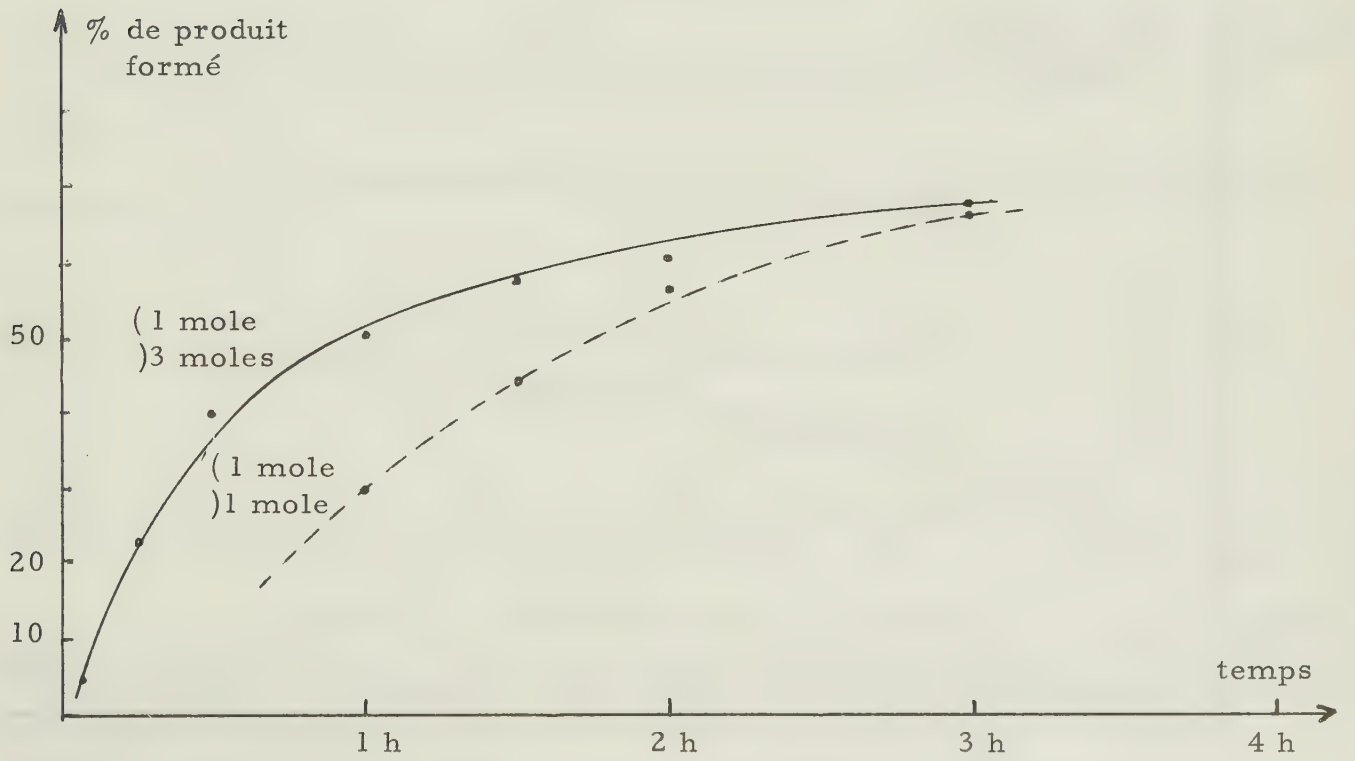
Courbe 2 (1 mole ester - 3 moles base)



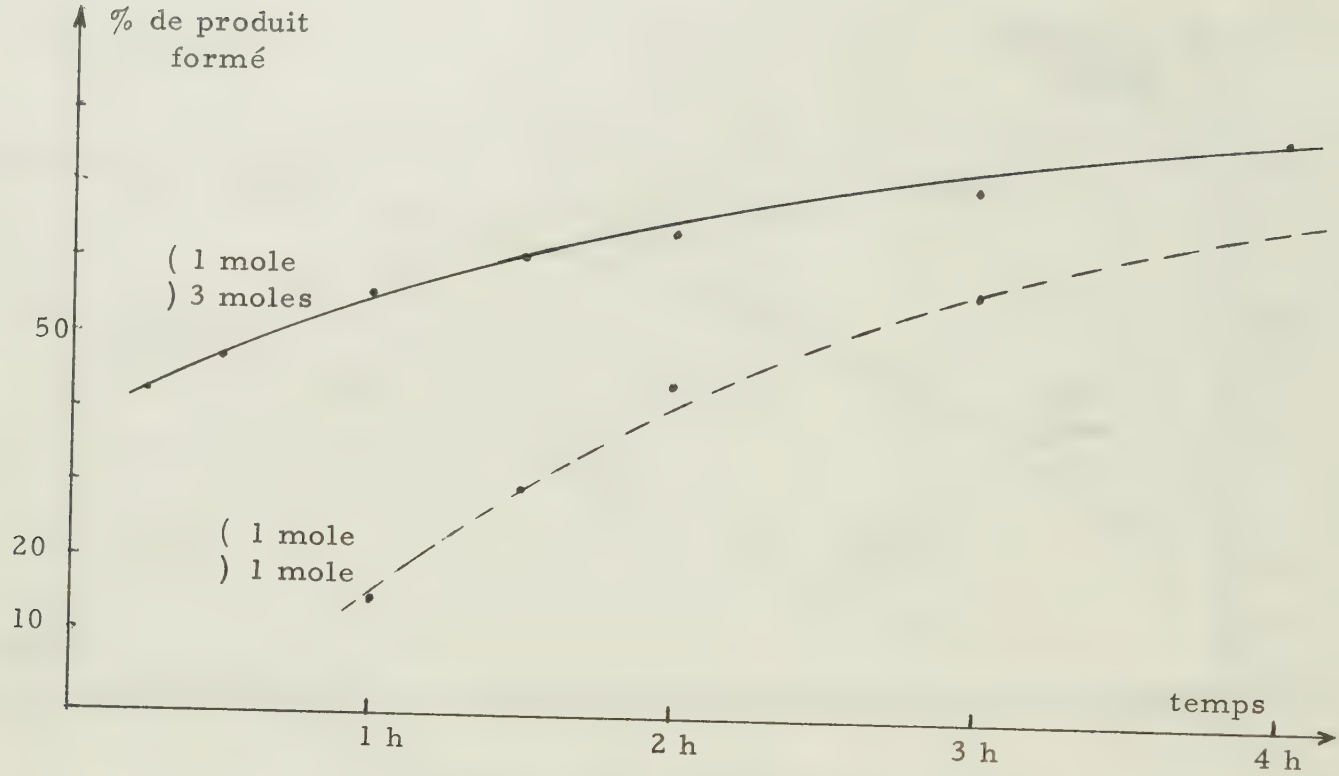
Courbe 3 (1 mole ester - 1 mole base)



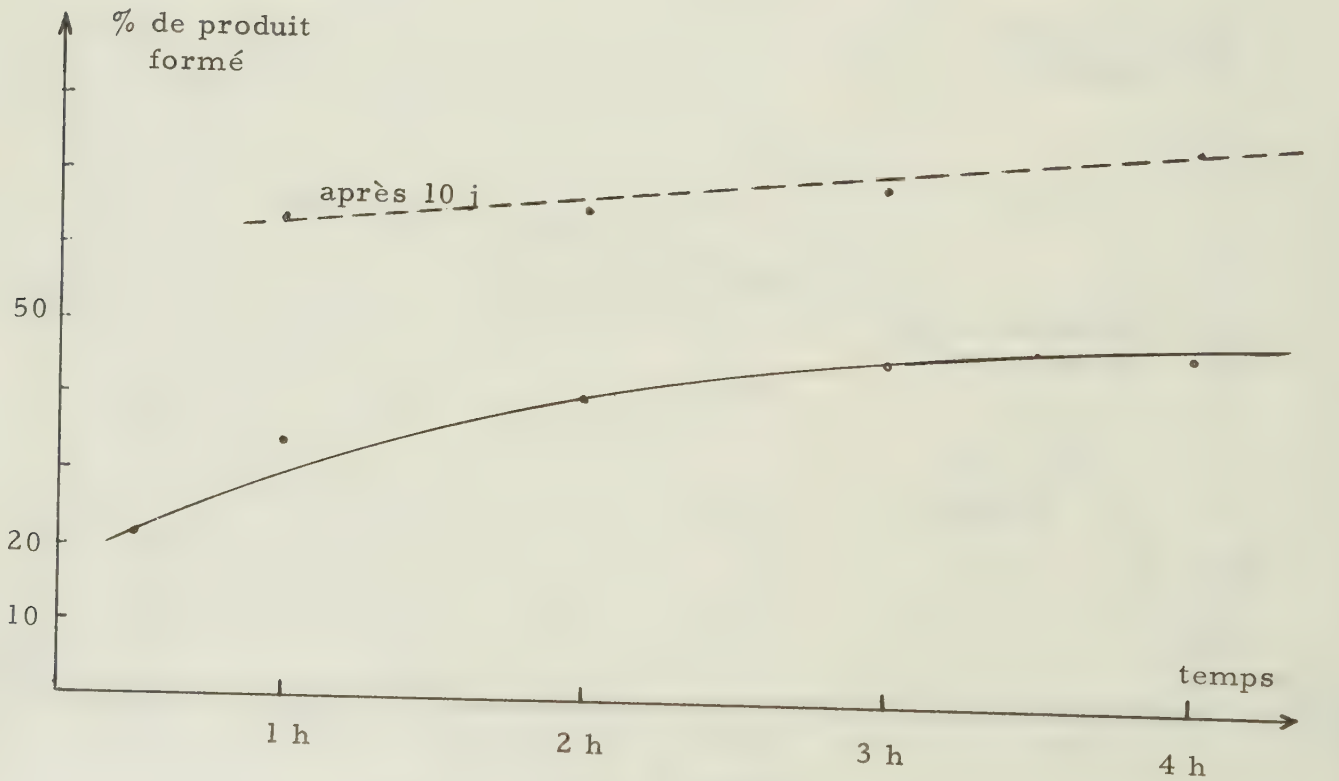
Courbe 4 - 60°



Courbe 5 - 100°



Courbe 6 80°



Courbe 7 - 20° (1 mole-3 moles)

Discussion des résultats

De l'observation des courbes 2 :

à 20°, 60°, 80°, 100° pour : (1 mole d'ester) 3 moles de base

on constate que le meilleur rendement est obtenu à 80° où il atteint 80 % au bout de 8 heures. Il a été possible de le vérifier expérimentalement lors de la préparation systématique du produit pour les essais biologiques et cliniques.

A 100°, la réaction démarre plus vite, mais plafonne plus vite. Ce rendement inférieur peut être causé par deux réactions compétitives : la formation d'amide signalée par POLLARD et MATTSON (8) et la réaction d'hydrolyse alcaline que nous étudierons plus loin.

A 60° , elle est plus lente, mais au bout de 3 heures, le rendement est le même qu'à 100° et au bout d'un laps de temps suffisant, elle atteindrait le même qu'à 80°.

A 20°, elle est lente mais au bout de 3 jours, elle atteint quand même 75 %.

On notera ici que les prises d'essais de cette courbe à 20°, conservées au réfrigérateur ont été chromatographiées après 10 jours. La réaction a continué à se faire, même à très basse température. Toutes les prises tendent vers le même pourcentage (courbe 7).

La température optimum de 80° n'a de l'intérêt que pour diminuer la durée de la réaction.

De l'observation des courbes 3 :

à 60°, 80°, 100° pour : (1 mole d'ester (1 mole de base

on remarque que le démarrage de la réaction est plus rapide à 100°, mais que, comme plus haut, elle plafonne plus vite qu'à 80°.

En comparant à chaque température (courbes 4, 5, 6, 7), les courbes 1 mole/3 moles et les courbes 1 mole/1 mole, on note que dans le second cas, la réaction démarre beaucoup plus lentement et le rendement est inférieur dans un domaine de temps limité. Ceci peut s'expliquer par une difficulté plus grande de rencontre des molécules.

II - ETUDE DE L'INVERSION DE LA REACTION DE MICHAEL

Avant d'étudier le métabolisme des chlorhydrates de (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de n-butyle et de (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionate d'isobutyle qui sont utilisés en clinique et pour avoir une idée de ce métabolisme, nous avons suivi, in vitro, la dégradation alcaline de ces produits. Nous avons constaté :

- l'hydrolyse de la fonction ester,
- le départ de la base par inversion de la réaction de Michaël, avec formation d'acide cinnamique.

1) Dégradation chimique du chlorhydrate de :

(pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionate d'isobutyle

15,5 g (1/20 mole) de chlorhydrate sont dissous avec 4,2 g (2,1/20 moles) de soude en pastilles dans 80 ml d'un mélange alcool-eau (il faut 55 % d'alcool pour que le mélange soit homogène) et chauffés 1/2 heure à reflux. L'alcool est évaporé, le mélange est homogène, donc la base libre de l'ester a disparu. Après refroidissement, le mélange est extrait à l'éther (éther B).

a) Cet éther, séché et évaporé, laisse un résidu de pyrrolidine n_D pyrrolidine témoin : 1,4435 ; récupérée : 1,442.

Poids : 0,6 g ; Eb = 88°.

b) Le mélange aqueux est acidifié avec de l'acide chlorhydrique N/10 Il se forme un précipité en petite quantité qui recristallise très bien dans l'eau.

F = 133° ; Poids : 0,8 g (après recristallisation).

Ce produit est identifié à l'acide cinnamique ; il est chromatographié (31), parallèlement à l'acide cinnamique du commerce, dans de l'acide acétique à 2 % et révélé avec du permanganate de potassium à 0,2 % ; les taches sont identiques, Rf = 0,5.

Acide cinnamique : $C_9H_8O_2$,	Calc. % :	C 72,97	H 5,45
	Tr.	72,48	5,53

Les eaux-mères sont lavées à l'éther. Cet éther contient encore un peu d'acide cinnamique.

c) La solution chlorhydrique restante est mise dans le réfrigérateur. Au bout de 5 jours, une cristallisation s'amorce en gros cristaux translucides qui recristallisent dans l'alcool absolu, F = 190°.

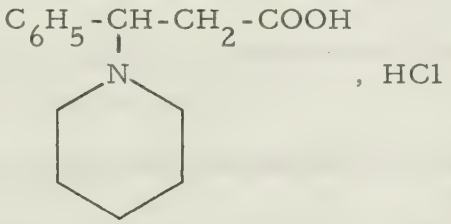
Ce chlorhydrate est chromatographié parallèlement au chlorhydrate de l'ester de départ, dans le solvant : butanol-acide acétique-eau (80-20-100). On obtient une bonne séparation :

Rf chlorhydrate dégradé : 0,73

Rf chlorhydrate de départ : 0,94

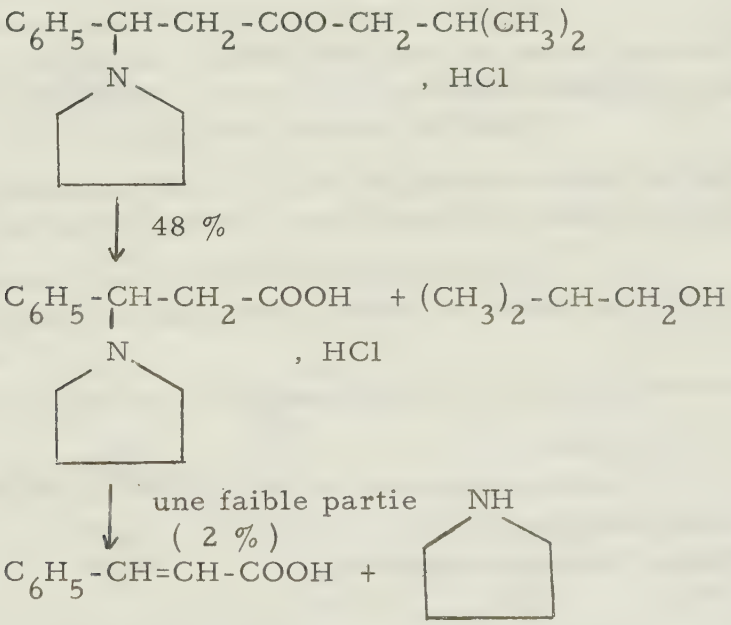
Nous avons établi que le nouveau spot correspond au :

Chlorhydrate de l'acide (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionique



Analyse : $C_{13}H_{18}ClNO_2$, Calc. % : C 61,05 H 7,04 N 5,48
Tr. 60,90 7,08 5,64.

En résumé :



Le produit s'hydrolyse, puis avec un rendement de 2 %, l'acide cinnamique et la pyrrolidine se séparent, ce qui met en évidence l'inversion de la réaction d'addition nucléophile de Michaël.

2° - Dégradation chimique du chlorhydrate de

(Pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de n-butyle

16 g (1/20 mole) de chlorhydrate sont chauffés 1/2 heure à reflux dans 50 ml d'un mélange alcool-eau à 50 % auquel on ajoute 4 g de soude en pastilles.

L'alcool est évaporé, le résidu est homogène, donc la base libre de l'éther a disparu.

On extrait à l'éther, soit éther B.

On neutralise avec de l'acide chlorhydrique et extrait à l'éther : éther N.

On acidifie et extrait à l'éther : éther A .

a) Ces trois solutions éthérées sont séchées séparément et évaporées à sec. On obtient :

Ether B : résidu butanol-pipéridine

Ether N : précipité blanc d'acide cinnamique qui, recristallisé dans l'eau fond à 133°. (Point de fusion mélangée avec de l'acide cinnamique = 133°).

Ether A : trace d'acide cinnamique.

b) La solution chlorhydrique, après 24 heures passées dans le réfrigérateur, donne un précipité blanc, abondant, qui recristallise bien dans un mélange propanol-éther sec ou dans la méthyléthylcétone. F = 135°.

Poids de produit recristallisé : 7 g.

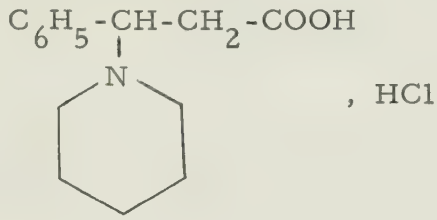
Point de fusion mélangée avec l'acide cinnamique (F = 133°) = 118°
Point de fusion mélangée avec l'ester aminé de départ (F = 140°) = 130°.

Le nouveau chlorhydrate est chromatographié parallèlement au chlorhydrate de l'ester de départ dans deux solvants : les Rf sont différents et inversés.

Solvants	Rf Produit dégradé	Rf Produit de départ
Acide acétique 15 %	0,90	0,84
Butanol-acide acétique-eau 80 20 100	0,84	0,93

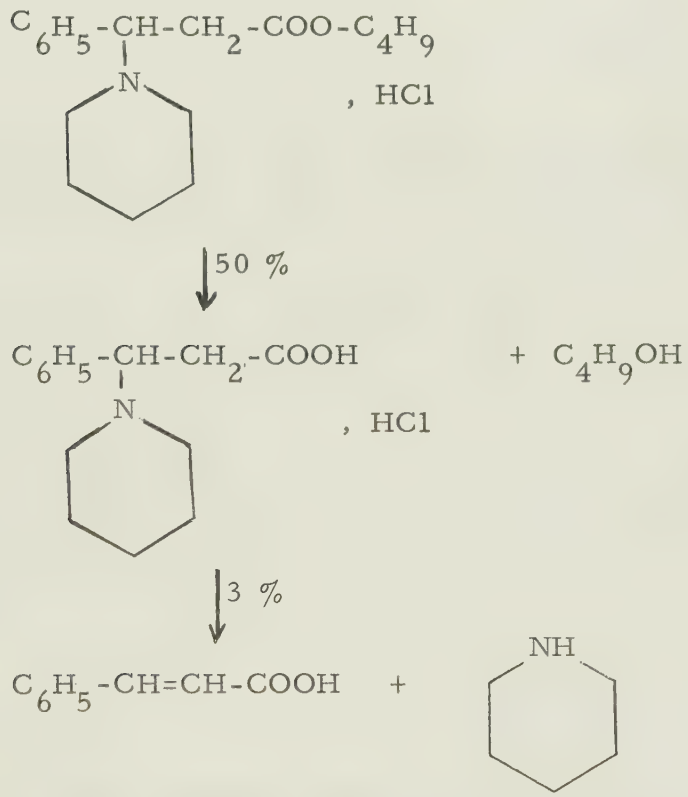
Le nouveau spot correspond au :

Chlorhydrate de l'acide (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionique.



Analyse : $C_{14}H_{20}ClNO_2$, Calc. % : C 62,33 H 7,42 N 5,19
Tr. 61,77 7,45 5,53.

En résumé, nous avons donc :



Deuxième exemple de l'inversion de la réaction d'addition nucléophile.

TROISIEME CHAPITRE

ETUDE DU METABOLISME DES CHLORHYDRATES DE (PIPERIDYL-1)-3 PHENYL-3 PROPIONATE DE n-BUTYLE (PYRROLIDYL-1)-3 PHENYL-3 PROPIONATE D'ISOBUTYLE .

Ces deux produits ont : le premier une activité spasmolytique à dominante musculotrope, le second une activité spasmolytique à dominante neurotrope.

Ils sont tous les deux utilisés en clinique.

Nous avons voulu étudier leur métabolisme par le foie de rat pour avoir une idée de leur évolution dans l'organisme.

Puis, nous avons cherché à mettre en évidence l'action antiacétylcholine de ces spasmolytiques.

Enfin, nous avons recherché sous quelle forme, ils étaient éliminés par l'urine.

I - METABOLISME DES PRODUITS PAR LE FOIE DE RAT

Métabolisme du chlorhydrate de : (Pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de n-butyle

Le foie d'un rat fraîchement tué est finement broyé dans un mortier (préalablement lavé à l'alcool et séché à l'étuve comme tous les récipients employés ici), puis mélangé à une quantité d'une solution M/50 d'un tampon phosphate à pH 7, égale à son poids.(Ce tampon est obtenu en mélangeant 3 ml de phosphate

monopotassique M/50 et 7 ml de phosphate disodique M/50). Le mélange est malaxé puis centrifugé 5 minutes et décanté. Le culot est repris avec 5 ml de tampon, malaxé, centrifugé de nouveau et décanté. Ce sont les liquides beige-rosé surnageant qui vont servir de milieu réactionnel.

9 ml de ce liquide sont mélangés avec 1 ml d'une solution du chlorhydrate à 20 mg/ml. Trois essais parallèles ont été effectués :

A - dont les protéines sont intactes,
B - dont les protéines sont floculées par une ébullition rapide suivie d'un refroidissement pour détruire toute activité enzymatique ;
C - où l'extrait de foie est remplacé par de la solution tampon pour vérifier qu'elle n'a aucune action sur la dégradation.

Les trois tubes à essais sont placés une nuit à l'étuve à 37°.

L'essai A est floculé à son tour.

Les trois essais sont acidifiés à pH = 2 avec une goutte d'acide chlorhydrique RP et centrifugés. Le culot est repris avec 5 ml d'acide chlorhydrique N/50 (pH = 2) et centrifugé de nouveau. Les solutions aqueuses acides sont réunies et extraites à l'éther.

a) Les solutions acides restantes sont concentrées à 1 ml au bain-marie tiède, sous un vide de 15 mm, puis chromatographiées parallèlement avec des quantités connues des chlorhydrates de l'ester aminé de départ et de l'acide aminé : acide (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionique, dans le mélange butanol-eau-acide acétique (80-20-100), les taches sont révélées avec le réactif de Draggendorff. La comparaison des taches permet une appréciation qualitative et quantitative des produits.

Essais	Produits	Quantités de produits introduits au temps 0	Quantités de produits extraits après 1 nuit
A (enzymes actives)	Chlorhydrate de l'ester	20 mg	0
	Chlorhydrate de l'acide	0	10 mg
B (enzymes détruites)	Chlorhydrate de l'ester	20 mg	10 mg
	Chlorhydrate de l'acide	0	traces
C (tampon)	Chlorhydrate de l'ester	20 mg	20 mg
	Chlorhydrate de l'acide	0	0

On constate :

- Essai C que le tampon n'agit pas sur le produit,
- Essai A que les enzymes du foie transforment l'ester en acide ,
- Essai B que l'action enzymatique est extrêmement rapide puisque même en floculant rapidement les protéines, une petite partie du produit est transformée.

Remarque - Dans le témoin B, floculé au temps 0, c'est-à-dire, sans action enzymatique, on ne trouve pratiquement que du produit de départ, mais on récupère à l'extraction seulement 50 % de la quantité initiale. Donc, dans les diverses manipulations, la moitié du produit est retenue par les protéines. Ce phénomène se répète dans toutes nos expériences. Dans l'essai A, ont peut donc penser que tout l'ester a été transformé en acide.

b) La solution éthérée après séchage est évaporée à sec puis reprise par 1 ml de méthanol. L'extrait est chromatographié dans de l'acide acétique à 2%, parallèlement à de l'acide cinnamique, puis révélé avec du permanganate de potassium à 0,2 %; il y a deux taches qui encadrent l'acide cinnamique.

Nous avons envisagé la possibilité d'un acide cinnamique cis, mais dans le cas de l'essai floculé au temps 0, les taches existent aussi. Il est plus probable qu'il s'agisse d'acides voisins de l'acide cinnamique existant dans le foie lui-même.

Les essais ont été faits à différents pH :

L'activité enzymatique est plus faible à pH = 5 et la dégradation se fait moins bien ;

à pH = 7 et pH = 8, il n'y a pas de différence. L'approximation est faite d'après l'importance des taches.

Etude de la disparition du chlorhydrate

L'extrait de foie et le produit sont laissés en contact pendant 1 heure à l'étuve à 37°.

On évalue alors la quantité de produit non transformé.

Pour cela, le mélange, après floculation, est centrifugé, puis acidifié, lavé à l'éther de pétrole pour éliminer les graisses et alcalinisé au bicarbonate de sodium pour libérer la base de l'ester aminé de départ qui est extraite à l'éther. Le produit dégradé reste en solution. La solution éthérée est séchée, évaporée à sec, reprise par 1 ml de méthanol et chromatographiée.

Au bout d'une heure, la quantité de (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de n-butyle restante est environ de 1/3 ; c'est-à-dire que les 2/3 du chlorhydrate de départ sont déjà dégradés et transformés en acide (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionique.

Au bout de 3 heures, il n'y a plus de produit de départ.

Métabolisme du chlorhydrate de
(Pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionate d'isobutyle

Il y a deux essais A et B contenant tous les deux 9 ml d'extrait de foie et 1 ml d'une solution de chlorhydrate à 20 mg/ml.

L'essai B est floculé au temps 0
L'essai A est floculé après 4 heures d'étuve à 37°.

Les deux essais sont centrifugés, acidifiés à pH = 2. Le culot est repris par de l'acide chlorhydrique N/50. Les solutions acides sont lavées à l'éther, puis concentrées à 1 ml. L'extrait est chromatographié parallèlement avec des quantités connues de chlorhydrate de l'ester aminé et de chlorhydrate de l'acide : (acide (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionique)

Essais	Produits	Quantités de produits introduits au temps 0	Quantités de produits extraits après 4 H
A (enzymes actives)	Chlorhydrate de l'ester	20 mg	0
	Chlorhydrate de l'acide	0	10 mg
B (enzymes détruites)	Chlorhydrate de l'ester	20 mg	10 mg
	Chlorhydrate de l'acide	0	traces

Au bout de 4 heures, tout le chlorhydrate de départ est transformé par les enzymes (Essai A). La transformation est très rapide, puisque dans l'Essai B, floculé au temps 0, il y a déjà des traces de produit dégradé. Nous remarquons la même perte de 50 % dans le produit extrait.

II - MISE EN EVIDENCE DE L'ACTION ANTIACETYLCHOLINE DES CHLORHYDRATES DE :

(Pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de n-butyle et
(Pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionate d'isobutyle.

1) Choline estérase du foie

Les enzymes du foie transforment l'acétylcholine en choline ou hydroxyde d'éthyloltriméthylammonium :

$$CH_2OH\text{-}CH_2\text{-}\underset{\underset{OH}{|}}{N}(CH_3)_3$$

mais ces enzymes ne sont pas spécifiques de l'acétylcholine, ils hydrolysent aussi d'autres esters.

STEDMAN en 1932 dénomma "Choline estérase", l'enzyme capable d'hydrolyser l'acétylcholine. L'hydrolyse de l'acétylcholine ou activité cholinestérasique est mesurée de façons très diverses, ce qui prouve qu'aucune méthode ne donne tout à fait satisfaction (51). Ces méthodes biologiques et chimiques sont basées le plus souvent sur la libération d'acide acétique. L'acide acétique est dosé, soit par mesure du dégagement de gaz carbonique issu de l'action de l'acide acétique sur du liquide de Ringer, soit par colorimétrie. ABDON et UBNAS apprécient la coloration brunâtre formée par l'acide acétique et le perchlorure de fer. GREGOIRE et DERRIEU suivent la décoloration progressive du rouge de phénol. HESTRIN mesure au bout d'un temps donné, la quantité d'acétylcholine non hydrolysée par formation d'un complexe ferrique hydroxamique coloré en pourpre.

La chromatographie sur papier de la choline avait déjà été réalisée pour son dosage et sa détection dans les milieux biologiques.

Nous nous en sommes inspirés pour mettre en évidence cette activité cholinestérasique du foie. Nous avons mis du broyat de foie en présence d'acétylcholine et nous avons suivi sa disparition par chromatographie sur papier.

Deux essais A et B ont été effectués. Ils contiennent chacun 9 ml d'extrait de foie (broyat de foie + tampon pH = 7, centrifugé) et 1 ml d'une solution d'acétylcholine à 4 mg/ml.

L'essai B est floculé au temps 0,
L'essai A est floculé après 3 heures à 37°.

Les deux essais sont centrifugés, le culot est repris avec de la solution tampon à pH = 7. Les solutions sont filtrées et concentrées à 1 ml au bain-marie tiède et sous un vide de 15 mm.

L'extrait est chromatographié dans un mélange butanol-acide acétique-eau (80-20-100), parallèlement à de l'acétylcholine témoin. Les taches sont révélée au réactif de Draggendorff.

Le réactif de Draggendorff ne donne pas avec l'acétylcholine et la choli des taches aussi nettes qu'avec les esters aminés. L'évaluation est moins précise :

	Rf
Acétylcholine	0,34
Choline	0,22

Essais	Produits	Quantités de produits introduits au temps 0	Quantités de produits extraits après 3 h
A (enzymes actives)	Acétylcholine Choline	4 mg 0	0 2 mg
B (enzymes détruites)	Acétylcholine Choline	4 mg 0	2 mg traces

On constate que dans :

L'essai A : toute l'acétylcholine a été transformée en choline par les enzymes du foie ;

L'essai B : où les enzymes sont détruites, on retrouve l'acétylcholine avec la même perte que plus haut de 50 % de produit retenu par les protéines.

2 - Action antiacétylcholine des produits

Nous avons vu que l'acétylcholine contracte la fibre musculaire lisse. Nos produits spasmolytiques inhibent l'action de l'acétylcholine. Nous allons suivre l'action des enzymes du foie sur l'acétylcholine en présence de deux chlorhydrates.

Les essais sont conduits simultanément : un témoin A contient seulement de l'acétylcholine et de l'extrait de foie, les essais B et C contiennent de l'acétylcholine et chacun des deux chlorhydrates.

En faisant varier la concentration du produit par rapport à celle de l'acétylcholine et la durée du séjour à l'étuve à 37°, on note que pour bien mettre en évidence l'action antiacétylcholine, il faut : 10 fois plus de produit que d'acétylcholine, 1 heure à l'étuve à 37° (si le temps est plus court, l'acétylcholine du témoin n'est pas entièrement transformée).

Essai A = 9 ml d'extrait de foie + 1 ml d'une solution d'acétylcholine à 4 mg/ml.

Essai B = 8 ml d'extrait de foie + 1 ml d'une solution d'acétylcholine à 4 mg/ml + 1 ml d'une solution de chlorhydrate de (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de butyle à 40 mg/ml.

Essai C = 8 ml d'extrait de foie + 1 ml d'une solution d'acétylcholine à 4 mg/ml + 1 ml d'une solution de chlorhydrate de (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionate d'isobutyle à 40 mg/ml.

Après 1 heure à l'étuve, les trois essais sont floculés, centrifugés, filtrés, concentrés et chromatographiés parallèlement à des témoins.

Essais	Produits	Quantités de produits introduits au temps 0	Quantités de produits extraits après 1 heure
A	Acétylcholine	4 mg	0
	Choline	0	2 mg
B	Acétylcholine	4 mg	2 mg
	Choline	0	traces
	Chlorhydrate de l'ester pipéridylé	40 mg	10 mg
	Chlorhydrate de l'acide pipéridylé	0	10 mg
C	Acétylcholine	4 mg	2 mg
	Choline	0	traces
	Chlorhydrate de l'ester pyrrolidylé	40 mg	10 mg
	Chlorhydrate de l'acide pyrrolidylé	0	10 mg

Au bout d'une heure, l'acétylcholine du témoin (essai A) est entièrement transformée en choline, alors que celle qui est en présence de nos produits (essais B et C) ne l'est pas.

La moitié du produit seulement est dégradée, ce qui est normal après 1 heure d'étuve.

En utilisant du sérum à la place du broyat de foie, il n'a pas été possible de mettre en évidence l'action anti-acétylcholine. L'acétylcholine du témoin est bien transformée en choline, le produit seul est normalement dégradé, mais le produit en présence d'acétylcholine n'empêche pas la transformation en choline et n'est lui-même que peu dégradé.

Discussion

Ceci s'explique parce que l'estérase du sérum est spécifique de l'acétylcholine et d'autres esters aliphatiques, donc l'action a lieu uniquement sur l'acétylcholine. Les estérases du foie ne sont pas spécifiques de l'acétylcholine, l'action compétitive des produits spasmolytiques peut avoir lieu et la transformation de l'acétylcholine est inhibée.

En conclusion, nos chlorhydrates n'ont pas d'action anticholinestérase c'est à dire qu'ils n'empêchent pas l'action de l'enzyme capable d'hydrolyser l'acétylcholine, mais ils ont une action antiacétylcholine , c'est à dire qu'ils déplacent l'acétylcholine des substrats sur lesquels elle agit.

III - EXAMEN CHROMATOGRAPHIQUE DES URINES DE RATS AYANT ABSORBE DU CHLORHYDRATE DE (PIPERIDYL-1)-3 PHENYL-3 PROPIONATE DE n-BUTYLE.

12 rats absorbent dans leur eau de boisson du produit à raison de 500 mg/kg. L'urine de 12 heures est recueillie et chromatographiée parallèlement à de l'urine de rats ayant absorbé du sérum physiologique et parallèlement à des témoins : chlorhydrate de l'ester aminé et chlorhydrate de l'acide aminé correspondant.

Il n'y a pas de trace de chlorhydrate de l'ester mais des taches très nettes de chlorhydrate de l'acide (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionique.

Pour 1 µl d'urine, les taches sont de l'ordre de 20 µg de substance, or grossièrement, si tout le produit était transformé, on devrait avoir 50 µg/µl. Si l'on tient compte d'une perte de moitié, due aux manipulations, il semble bien que la plus grande partie du produit s'élimine sous forme d'acide aminé.

Nous n'avons pas étudié les matières fécales qui nous auraient permis un bilan plus complet.

QUATRIEME CHAPITRE.

ETUDE DES FORMES PHARMACEUTIQUES.

I - DOSAGE DU CHLORHYDRATE DE (PIPERIDYL-1)-3 PHENYL-3 PROPIONATE DE n-BUTYLE DANS LES SUPPOSITOIRES.

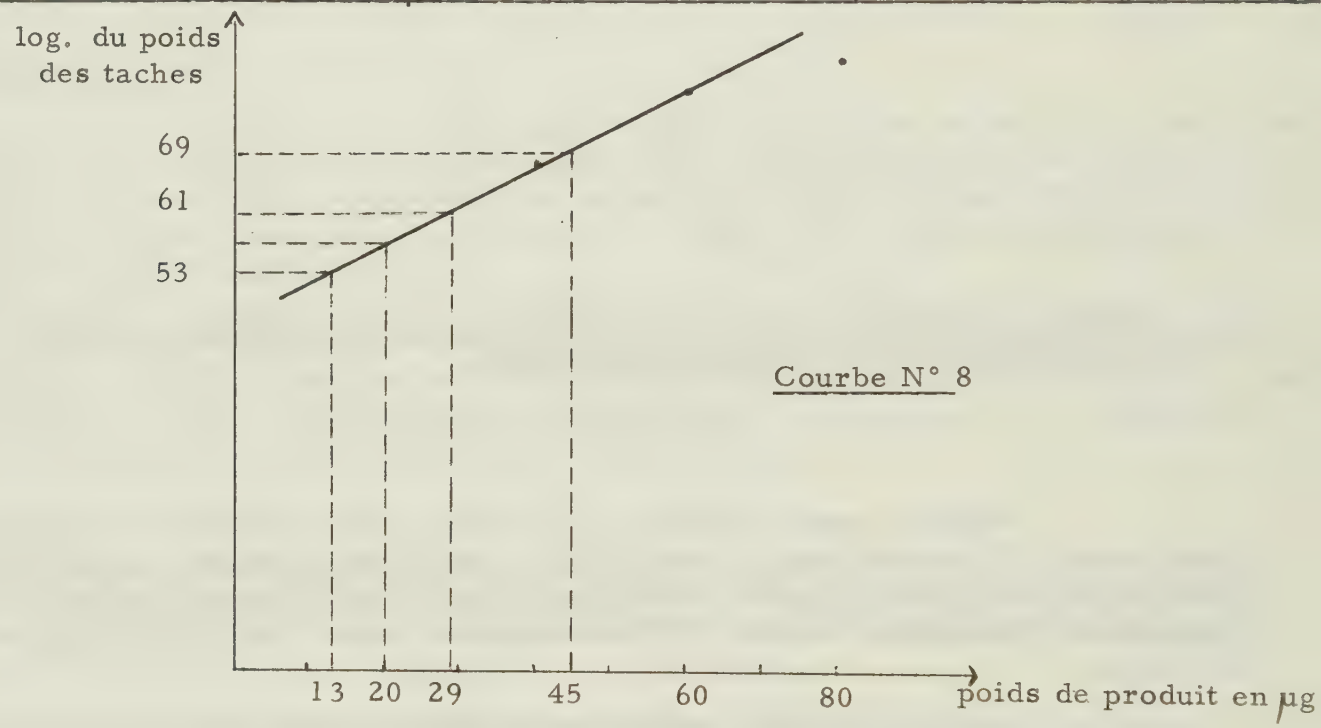
Pour les essais cliniques, le produit a été conditionné en suppositoires. Nous avons été amenés pour le contrôle de la fabrication à mettre au point son dosage par pesée des taches de chromatographie. Nous avons eu quelques difficultés à cause de l'excipient. En effet, 150 mg de produit sont dilués avec 2,5 g de beurre de cacao.

Comme plus haut, nous faisons chaque foie une courbe étalon pour éliminer les causes d'erreurs. Les extraits de suppositoires sont chromatographiés parallèlement à des quantités connues de produit.

Partie expérimentale

Le suppositoire doit contenir 150 mg de produit. Il est dissous dans 6 ml d'eau distillée chaude. On ajoute de l'éther qui dissout le beurre de cacao, on décante, lave l'éther avec 2 ml d'eau distillée, réunit les phases aqueuses qui sont ajustées à 10 ml dans un ballon jaugé. La solution obtenue devrait contenir 15 µg/µl On chromatographie 1, 2, 3 µl de solution

	Poids des taches en g	Log.
Suppositoire 1 µl	0,0341	$\bar{2}$,5328
Produit 20 µg	0,0373	$\bar{2}$,5717
Suppositoire 2 µl	0,0405	$\bar{2}$,6075
Produit 40 µg	0,0480	$\bar{2}$,6812
Suppositoire 3 µl	0,0490	$\bar{2}$,6902
Produit 60 µg	0,0591	$\bar{2}$,7716
Produit 80 µg	0,0657	$\bar{2}$,8176



Courbe N° 8

1 µl correspond sur la courbe à 13 µg pour 15
2 - - - 29 - - 30
3 - - - 45 - 45

L'écart d'erreur est faible, seule une certaine pratique est nécessaire. Le dosage, mis au point, a d'ailleurs été repris facilement par le service du contrôle de suppositoires.

II - SEPARATION DES CHLORHYDRATES DE :

(PIPERIDYL-1)-3 PHENYL-3 PROPIONATE DE n-BUTYLE et

(PYRROLIDYL-1)-3 PHENYL-3 PROPIONATE D'ISOBUTYLE.

Les deux produits ont été conditionnés en suppositoires et en cachets. Tous deux ont une activité spasmolytique (l'un à dominante musculotrope, l'autre à dominante neurotrope). Il a donc été nécessaire de les caractériser séparément pour le contrôle des formes pharmaceutiques. C'est ce que nous avons essayé de faire par chromatographie.

Les deux chlorhydrates ont été chromatographiés dans différents systèmes de solvants pour étudier leur Rf. Dans les solvants classiques : acide acétique à 15 %, à 60 %, butanol-acide acétique-eau (80-20-100), acétone à 20 %, à 80 %, propanol à 20 %, à 80 %, benzène-méthanol 100-2, les Rf sont toujours identiques.

En utilisant les bases libres à la place des chlorhydrates, les Rf sont un peu décalés, mais les taches présentent des traînées importantes qui les rendent inutilisables.

MUNIER (30) dans l'étude de la séparation des alcaloïdes et des amines de Rf voisins a eu l'idée d'imprégner préalablement le papier à chromatographie, par des sels convenables afin de modifier les solubilités et les équilibres ioniques des bases dans l'eau du papier.

Après un certain nombre d'essais, c'est en utilisant des papiers imprégnés par du phosphate monopotassique (contenant des hydrogènes ionisables encore libres) que les chlorhydrates pourront être séparés:

Les feuilles de papier à chromatographier sont imprégnées avec des solutions à 2,5 % de phosphate monopotassique. L'excès d'eau est épongé entre des feuilles de papier filtre puis les feuilles sont séchées à température ambiante. Ce papier est ensuite utilisé comme un papier normal. Les taches obtenues en révélant avec le réactif de Draggendorff sont rondes, sans traînée et décalées l'une par rapport à l'autre. Le seul inconvénient vient de ce que le réactif est sensible à l'acidité du papier et que la coloration des taches est moins durable.

Sur papier imprégné de PO_4H_2K à 2 % , nous obtenons les résultats suivants :

Solvants	Rf du dérivé pipéridylé	Rf du dérivé pyrrolidylé.
Butanol sec	0,72	0,67
Isobutanol	0,85	0,78
Isopropanol	0,88	0,88
Butanol tertiaire -eau (80) (20)	0,88	0,87
Alcool benzylique	0,74 (taches allongées)	0,73
Alcool amylique	0,61	0,55
Alcool amylique tertiaire	traînées	
Alcool amylique tertiaire (saturé d'eau)	0,93	0,93
Alcool amylique tertiaire - eau (95) (5) 24 h	0,62 (un peu étirées)	0,49
Alcool amylique tertiaire - eau (90) 24 h (10)	0,64	0,56
48 h	0,86	0,73
Cyclohexanol 72 h	0,68	0,53

C'est le mélange alcool amylique tertiaire-eau (90-10) qui donne la meilleure séparation, avec des taches nettes. Il faut laisser monter le solvant assez longtemps. C'est celui que nous conserverons pour le contrôle.

CONCLUSION

Après avoir passé en revue les différentes classes de spasmolytiques et analysé les règles qui régissent en pharmacodynamie les relations entreles structures chimiques et l'activité physiologique des médicaments nous avons abordé l'étude d'une nouvelle série de spasmolytiques.

Nous avons synthétisé des corps de formules générales :

$$\begin{array}{l} X\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}Y \\ | \\ N(R', R'') \end{array}$$

où Y représente des fonctions ester, cétone, amide et amine.

Nous avons préparé les esters, cétones, amides dérivant de l'acide cinnamique, substitué ou non sur le noyau phényle, ou de ses analogues structuraux dans lesquels Ar est remplacé par le noyau furyle, par addition nucléophile d'une base azotée secondaire sur la double liaison. Les diamines ont été préparées, soit par l'intermédiaire de dérivés bromés, soit par réduction de composés à degré d'oxydation supérieur.

Parmi les soixante produits que nous avons synthétisés, dont quarante-sept sont nouveaux, un bon nombre possède des propriétés pharmacologiques intéressantes . Deux ont été suffisamment actifs et assez peu toxiques pour être utilisés en clinique : le chlorhydrate du (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de n-butyle , spasmolytique à dominante musculotrope et le chlorhydrate du (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionate d'isobutyle, spasmolytique à dominante neurotrope.

Le fait d'augmenter d'un CH_2, la chaine entre les fonctions amine et ester a rendu le produit beaucoup plus actif que certains corps appartenant à la série homologue inférieure :

$$C_6H_5\text{-}\underset{\underset{N(R',R'')}{|}}{CH}\text{-}COOR$$

L'encombrement différent de cette nouvelle molécule favorise son action.

Nous avons noté que l'activité croît avec la liposolubilité, avec un maximum pour le dérivé butylique dans cette série. Mais nous n'avons pas pu établir une relation précise entre l'activité physiologique et la solubilité.

Ces produits ayant été remarqués par leurs propriétés, nous avons mis au point leur dosage par pesée des taches de chromatographie, qui nous a permis d'étudier :

- leur formation, par l'étude cinétique de la réaction d'addition nucléophile de Michaël,

- leur dégradation avec un exemple de l'inversion de la réaction de Michaël,

- leur métabolisme par le foie de rat,

- leur action spasmolytique anti-acétylcholine montrant qu'ils doivent agir en déplaçant l'acétylcholine de ses effecteurs, mais que dans le cas d'acétylcholinestérase spécifique, ils n'ont pas d'action compétitive.

BIBLIOGRAPHIE.

(1) J. LEVY et B. TCHOUBAR, Actualités pharm., 1952, 5ème série, p. 143
(2) J. SCHMUTZ, Helv. chem. Acta, 1953, 36 III, 620.
(3) H. PACHECO, Bull. Soc. chim., 1960, 95.
(4) REETZ, D.P.R., 1950, 85 98 92.
(5) BLICKE, FAUSTE et RAFFELSON, J. amer. chem. Soc., 1954, 76, 3161.
(6) JANSEN, J. amer. chem. Soc., 1954, 76, 6192.
(7) H. NAJER, P. CHABRIER, et R. GIUDICELLI, Bull. Soc. chim., 1958, 355.
(8) POLLARD et MATTSON, J. amer. chem. Soc., 1956, 78, 4089.
(9) A. P. PHILIPPS, J. amer. chem. Soc., 1950, 72, 3298.
(10) R. ADAM, J. amer. chem. Soc., 1944, 66, 257.
(11) L.H. CRETCHER et W.H. PITTENGER, J. amer. chem. Soc., 1924, 46, 1503.
(12) STAUB, Ann. Inst. Pasteur, 63, 400-420.
(13) W.H. PERKIN, J. chem. Soc., 1877, 31, 408.
(14) W.H. PERKIN et R. ROBINSON, J. chem. Soc., 1907, 91, 1079.
(15) R.D. HAWORTH, W.H. PERKIN Jr, H.S. PINK, J. chem. Soc., 1925, 127, 1714.
(16) W.H. PERKIN Jr., E. SCHIESS, J. chem. Soc., 1904, 85, 164.
(17) JOHNSON, Org. Synth., 1940, 20, 55.
(18) H. NAJER, P. CHABRIER, R. GIUDICELLI et J. SETTE, Bull. Soc. chim., 1958, 1189.
(19) H. NAJER et R. GIUDICELLI, Bull. Soc. chim., 1960, 956.
(20) D. GINSBURG et M.M. BAIZER, J. amer. chem. Soc., 1949, 71, 2254.
(21) L.H. AMUNDSEN et L.S. NELSON, J. amer. chem. Soc., 1951, 73, 242.
(22) DRAGGENDORFF, Bull. Soc. chim. Biol., 1949, 31, 1146.
(23) KOHLER et CHADWELL, Org. Synth., 1922, II, p. 1.
(24) GILMAN et BLATT, Org. Synth., 1941, I, p. 77 (2ème édition).
(25) STOBBE et ROSENBURG, Prakt. chem., 1912, (2), 86, 230-251.
(26) ADAMS et NALLER, Org. Synth., 1925, 5, 19.
(27) ALLEN et BARKER, Org. Synth., 1932, 12, 16.
(28) LIMPRICHT et SCHWANERT, Ann. Chem., 1870, 155, 68.
(29) JACKSON et FIELD, J. amer. chem. Soc., 1880, 2, 89.
(30) MUNIER, Bull. Soc. chim., 1952, 863.

(31) Ph. COMTE, Thèse Lyon, 1958, p. 24.
(32) L. GRUNDLAND, Bio. chem. pharm., nov. 1952, p. 243.
(33) M. AUROUSSEAU, Produits Pharm., 1958, 13, 189.
(34) P. MEUNIER et Ch. MENTZER, Bull. Soc. chim. Biol., 1948, 30, 862.
(35) NORMANN et H. CROMWELL, J. amer. chem. Soc., 1942, 64, 2433.
(36) H. C. BRILL et C. F. COOK, J. amer. chem. Soc., 1933, 55, 2062.
(37) F. WEGER, Ann. chem. und pharm., 1883, 216, 126.
(38) FISHER et SPEIR, Ber., 1895, 28, 3254.
(39) D. VORLANDER et R. WALTER, Z. phys. Chem., 1925, 118, 12-17.
(40) J. J. SNOLBOROUGH et K. J. THOMSON, J. chem. Soc., 1903, 83, 676.
(41) YATHIRA, SUDBOROUGH, Chem. Zbl., 1926, I, 70.
(42) THUILIER et RUMPF, C. R. Acad. Sci., 1960, 250, 1674.
(43) EVANS et MORGAN, J. amer. chem. Soc., 1913, 35, 56.
(44) CAHOURS, Ann. Chem., 1849, 70, 43.
(45) GIBSON et KAHNWEITER, J. amer. chem. Soc., 1890, 12, 315.
(46) P. D. BARTLETT et S. D. ROSS, J. amer. chem. Soc., 1947, 69, 460.
(47) WILDER et SMITH, Helv. chim. Acta, 1959, 42, 1764.
(48) MARCKWALD, Ber., 1888, 21, 1404.
(49) J. SCHMUTZ, H. LAUENER, R. HIRT, M. SAUZ, Helv. chim. Acta, 1951, 34, 767.
(50) WILDER et SMITH, Helv. chim. Acta, 1953, 1698.
(51) Y. et M. RUCKEBUSCH, Cahiers de Médecine vétérinaire, Juil-Août 1961, 30, N° 4.

TABLE DES MATIERES

Pages

INTRODUCTION 1

CHAPITRE PREMIER

- Généralités sur les relations structure-activité en pharmacologie 3

DEUXIEME CHAPITRE

- Les spasmolytiques 7

PREMIERE PARTIE : SYNTHESE CHIMIQUE 13

INTRODUCTION 15

CHAPITRE PREMIER : 17

Esters amino-3 aryl-3 propioniques
(tableaux récapitulatifs) (19 à 24)

DEUXIEME CHAPITRE :

Amino-3 aryl-3 propionamides 49
(tableaux récapitulatifs) (50 à 54)

TROISIEME CHAPITRE :

Cétones aminées 63

QUATRIEME CHAPITRE :

Diamines 69
(tableau récapitulatif) 72

Pages

DEUXIEME PARTIE : ETUDE PHARMACOLOGIQUE DES PRODUITS 77

PREMIER CHAPITRE :

Idées directrices pour la synthèse de certains dérivés 79

DEUXIEME CHAPITRE :

Dosages biologiques 83

TROISIEME CHAPITRE :

Bilan et discussion des résultats. 95

TROISIEME PARTIE

INTRODUCTION 101

PREMIER CHAPITRE : 103

Chromatographie du chlorhydrate de (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de n-butyle 103

DEUXIEME CHAPITRE :

I - Etude de la cinétique de la réaction d'addition nucléophile 109

II - Etude de l'inversion de cette réaction. 118

TROISIEME CHAPITRE :

I - Métabolisme des chlorhydrates de : (pipéridyl-1)-3 phényl-3 propionate de n-butyle et (pyrrolidyl-1)-3 phényl-3 propionate d'isobutyle par le foie de rat. 123

II - Mise en évidence de leur action antiacétylcholine. 127

QUATRIEME CHAPITRE :

Etude des formes pharmaceutiques. 131

CONCLUSION 135

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE 137

DEUXIEME THESE

Propositions données par la Faculté.

LE BENZYNE.

Vu :

Les Membres du Jury :

J. COLONGE Président

J. CHOPIN)
H. PACHECO) Membres du Jury

Vu et approuvé :

Le Doyen de la Faculté des Sciences

H. GAUTHIER

Vu et accordé le permis d'imprimer :

Lyon, le 6 Février 1962

Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université :

P. LOUIS